

Zeitschrift
für
Immunitätsforschung
und experimentelle Therapie

I. Teil: Originale

unter Mitwirkung von

M. Ascoli, Catania, **V. Babes**, Bukarest, **O. Ball**, Prag, **E. F. Bashford**, London,
S. Belfanti, Mailand, **A. Besredka**, Paris, **J. Bordet**, Brüssel, **A. Breinl**, Liverpool,
L. Brieger, Berlin, **A. Calmette**, Lille, **A. Dieudonné**, München, **R. Doerr**, Wien,
M. Dofset, Washington, **E. v. Dungern**, Heidelberg, **S. Flexner**, New York,
U. Friedemann, Berlin, **P. Frosch**, Berlin, **G. Gaffky**, Berlin, **M. v. Gruber**, München,
L. Haendel, Berlin-Lichterfelde, **M. Hahn**, Freiburg i. B., **A. Heffter**, Berlin,
L. Hektoen, Chicago, **M. Jacoby**, Berlin, **C. O. Jensen**, Kopenhagen, **K. Kibkalt**,
Königsberg i. Pr., **S. Kitasato**, Tokio, **W. Kolle**, Frankfurt a. M., **W. Kruse**, Leipzig,
K. Landsteiner, Wien, **C. Levaditi**, Paris, **L. von Liebermann**, Budapest, **Th. Madsen**,
Kopenhagen, **C. J. Martin**, London, **L. Michaelis**, Berlin, **R. Muir**, Glasgow,
C. Moreschi, Pavia, **P. Th. Müller**, Graz, **M. Neisser**, Frankfurt a. M., **F. Neufeld**,
Berlin, **F. Nuttall**, Cambridge, **R. von Ostertag**, Berlin, **R. Paltauf**, Wien,
A. Pettersson, Stockholm, **R. Pfeiffer**, Breslau, **E. P. Pick**, Wien, **C. J. Salomonsen**,
Kopenhagen, **A. Schattenfroh**, Wien, **Cl. Schilling**, Berlin, **P. Schmidt**, Halle a. S.,
Th. Smith, Boston, **G. Sobernheim**, Berlin, **V. C. Vaughan**, Ann Arbor,
A. v. Wassermann, Berlin, **W. Welchardt**, Erlangen, **A. Wladimiroff**, St. Petersburg,
A. E. Wright, London, **D. Zabolotny**, St. Petersburg

herausgegeben von

E. FRIEDBERGER

(Greifswald.)

R. KRAUS

(Buenos Aires.)

H. SACHS

(Frankfurt a. M.)

P. UHLENHUTH

(Straßburg i. E.)

Siebenundzwanzigster Band

Mit 1 Tafel, 12 Figuren und 26 Kurven im Text



Jena

Verlag von Gustav Fischer

1918

Alle Rechte vorbehalten.

UJAO 70 VIRU
100102 JAO103M

Inhaltsverzeichnis.

Heft 1 und 2. (Ausgegeben am 10. Juni 1918.)

	Seite
Ball, Oskar, Vibrionenvergiftung durch den Tierkörper. [Aus dem Hygienischen Institute der Deutschen Universität Prag]	1
Bieling, Richard, Ueber die experimentelle Chemotherapie des Gasbrandes [Aus der Bakteriologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.] Mit 1 Kurve im Text	65
Uckermark, Max, Ueber Agglutination bei Paratyphus A. [Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie (Direktor: Geheimrat Professor Dr. Uhlenhuth); Abteilung für Typhusbekämpfung (Leiter: Professor Dr. Kuhn) zu Straßburg i. Els.	147
Massini, Rudolf, Bemerkung zu E. Friedberger: Bemerkungen zu vorstehender Arbeit von Massini, Ueber die anaphylaktische Reaktion des Meerschweinchendarmes. Diese Zeitschr., Bd. 25, p. 183 . .	194
Friedberger, E., Schlußwort zu den voraufgehenden Ausführungen von Dr. Rudolf Massini	196

Heft 3. (Ausgegeben am 8. Juli 1918.)

Mansfeld, G., Eine physiologische Erklärung der Agglutination. [Aus dem k. und k. bakteriologischen Feldlaboratorium No. 38 der Salubritätskommission No. 5 (Präsident: Stabsarzt Dozent Dr. V. K. Ruß).] Mit 7 Kurven im Text	197
Massini, Rudolf, Weitere Untersuchungen am anaphylaktischen Meerschweinchendarm (Doppelimmunisierungen). [Aus der Medizinischen Universitätsklinik des Bürgerspitals Basel (Vorsteher: Prof. R. Staehelin).] Mit 9 Kurven im Text	213
Nathan, Ernst, Experimentelle Untersuchungen über das Wesen der Wassermannschen Reaktion. [Aus der Dermatologischen Universitätsklinik zu Frankfurt a. M. (Direktor: Geheimrat Prof. Dr. K. Herxheimer)]	219

25511

Heft 4. (Ausgegeben am 20. Juli 1918.)

	Seite
Rosenthal, F., Beiträge zur Immunität bei Trypanosomeninfektionen. Ueber den Mechanismus der chemotherapeutischen Heilung. [Aus den Laboratorien der bakteriologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin und der Medizinischen Klinik der Universität Breslau]	287
Berczeller, L., Soll die Wassermannsche Reaktion mit aktivem oder inaktiviertem Patientenserum ausgeführt werden? [Aus dem bakteriologischen Laboratorium des k. und k. Militärsanitätskomitees in Wien (Vorstand: Oberstabsarzt Prof. Dr. R. Doerr)] . . .	305
v. Liebermann, L., und Acél, D., Ueber Agglutination homologer und heterologer Antigene durch Immunsere. [Aus dem Hygienischen Institut der Universität Budapest]	325
Baumgärtel, Traugott, Ueber den Einfluß der Typhusschutzimpfung auf die Züchtbarkeit der Paratyphusbacillen aus Blut. [Aus dem bakteriologischen Laboratorium des beratenden Hygienikers einer Armee.] Mit 9 Kurven im Text	333
Meinicke, E., Die Lipoidbindungsreaktion	350
Citron, H., Ueber ein neues Verfahren zur Herstellung von Kollodiumsäckchen. [Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie in Dahlem (Direktor: Geheimrat v. Wassermann)] .	363
Citron, H., Ueber Depotbehandlung mit schwerlöslichen Präparaten mit Hilfe von Kollodiumsäckchen. [Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie in Dahlem (Direktor: Geheimrat v. Wassermann)]	365

Heft 5. (Ausgegeben am 17. August 1918.)

Citron, H., Ueber die Einwirkung des Mesothoriums auf Trypanosomen. [Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie in Dahlem (Direktor: Geheimrat v. Wassermann)] .	369
Neufeld, Ludwig, Ueber den Einfluß der Toxizität des Komplements und der Hämagglutination auf den Ablauf der Hämolyse. [Aus des Verfassers Laboratorium]	373
Loewit, M., Der akute anaphylaktische Shock beim Meerschweinchen. [Aus dem Institute für experimentelle Pathologie der k. k. Universität Innsbruck.] Mit 12 Figuren im Text	407

Heft 6. (Ausgegeben am 6. Dezember 1918.)

Bergel, S., Beiträge zur Lehre von der Hämagglutination und Hämolyse. [Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie Berlin-Dahlem (Direktor: Geheimer Medizinalrat Prof. Dr. A. v. Wassermann).] Mit 1 Tafel	441
--	-----

Inhaltsverzeichnis.

V

	Seite
Friedberger, E. (nach gemeinschaftlichen Versuchen mit E. Schloschl), Ueber den Einfluß von Desinfektionsmitteln auf invisible Virus- arten. II. Das Verhalten des Virus der Vogelpocke (<i>Epithelioma</i> <i>contagiosum</i>) gegenüber verschiedenen Desinfektionsmitteln nebst Untersuchungen über das Wesen der Krankheit. (Aus der Ab- teilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie des Pharmakologischen Instituts der Universität Berlin und aus dem Hygienischen Institut der Universität Greifswald]	459
Rumpf, Franz , Ueber die anaphylaktische Reaktion der Leber. [Aus der Medizinischen Universitätsklinik Basel (Vorsteher: Professor Dr. R. Staehelin)]	489
Melnicke, E. , Zur Extraktfrage bei der Serodiagnose der Syphilis .	513
Georgi, W. , Die Bedeutung der Extraktbeschaffenheit für die Aus- flockung des syphilitischen Blutserums. [Aus dem Königl. In- stitut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M., Direktor: Geh. Med.-Rat Professor Dr. W. Kolle. (Experimentell-bio- logische Abteilung: Professor Dr. H. Sachs)]	518
Klinger, R. , Zur Frage der Titersteigerung durch Blutentziehungen. [Aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich (Direktor: Prof. Silberschmidt)]	532

Autorenverzeichnis.

- | | |
|---------------------------------|--------------------------------------|
| Acél, D., s.: v. Liebermann, L. | v. Liebermann, L., und Acél, D. 325. |
| Bail, Oskar 1. | Loewit, M. 407. |
| Baumgärtel, Traugott 333. | Mansfeld, G. 197. |
| Berczeller, L. 305. | Massini, Rudolf 194, 213. |
| Bergel, S. 441. | Meinicke, E. 350, 513. |
| Bieling, Richard 65. | Nathan, Ernst 219. |
| Citron, H. 363, 365, 369. | Neufeld, Ludwig 373. |
| Friedberger, E. 196. | Rosenthal, F. 287. |
| — mit Schioschi, E. 459. | Rumpf, Franz 489. |
| Georgi, W. 518. | Schioschi, E., s.: Friedberger, E. |
| Klinger, R. 532. | Uckermark, Max 147. |
-

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institute der Deutschen Universität Prag.]

Vibrionenvergiftung durch den Tierkörper.

Von Oskar Ball.

(Eingegangen bei der Redaktion am 21. Mai 1917.)

In mehreren vorhergegangenen Mitteilungen ist auf Grund eines genaueren Studiums echt antitoxischer Seren, die man bei gewissen giftigen Vibrionen nach Art der El Tor-Vibrionen erhalten kann, der Nachweis erbracht worden, daß diese für die Beeinflussung der Vibrionenleibesgifte (Endotoxine) nichts Wesentliches zu leisten vermögen. In Uebereinstimmung mit Ergebnissen von R. Pfeiffer und seiner Schule erscheinen die Lösungsgifte, die solche Vibrionen als echte Toxine bilden, als interessante Besonderheiten, die gewiß dazu beitragen, das sehr schwere Krankheitsbild nach Einimpfung der Vibrionen herbeizuführen, die aber die Verhältnisse der Choleravergiftung, die auch bei giftarmen Stämmen, also sicher der größten Mehrzahl der vorhandenen, auftreten, nicht erklären lassen. Vibrionen wie der hier verwendete *Vibrio Kadikjöji* sind, sozusagen im Nebenamte, echte Toxinbildner, aber selbst bei ihnen genügt die vollständige Beseitigung des Toxins durch verhältnismäßig leicht zu gewinnende Seren nicht, um die Vergiftung durch das ihnen wie den giftarmen Stämmen zukommende Leibesgift zu verhindern. Man darf also nicht, wie etwa bei Diphtherie, schließen, wo zwar ebenfalls wirklich giftreiche Stämme selten sind, wo aber doch auch giftarme Stämme das gleiche Gift, nur in viel geringerer Menge, hervorbringen. Bei den Vibrionen besitzen vermutlich alle möglichen Stämme ungefähr das gleiche Leibesgift, einige aber daneben auch Lösungsgift, für dessen Wirkung und Beseitigung ganz andere Gesetze in Anwendung kommen müssen als für das erstere.

Der praktisch recht trostlose Stand der Frage der Beseitigung des Leibesgiftes, nicht nur für Vibrionen, sondern für alle Halbparasiten überhaupt, ist zu oft hervorgehoben worden, als daß er nochmals ausführlich beschrieben werden müßte. Im ganzen hat es wirklich den Anschein, als ob, wie dies von Wolff-Eisner vermutet wurde, wirkliche Antitoxine gegen Bakterienleibesgifte nicht bestünden. Jedenfalls ist es nicht gelungen, bisher ein Serum herzustellen, das gegen sie, so wie etwa das Tetanusserum gegen Tetanuslösungsgift, zu schützen vermöchte. Soweit dies genauer untersucht werden konnte, sind echt antitoxische Seren immer nur bei jenen Halbparasiten erzeugt worden, die gleichzeitig, sozusagen zufällig, auch echte Giftbildner sind, wie die El Tor-Vibrionen, gewisse andere Cholera- und Typhusstämmen (vgl. außer anderen namentlich die Arbeiten von R. Kraus), die giftigen Dysenterien vom Typus Kruse-Shiga u. dgl. Pfeiffer und Bessau verzichten im Grunde genommen ebenfalls auf eine wirklich antitoxische Beeinflussung des Leibesgiftes, wenn sie für eine solche die Bakteriolyse bakterizider Seren als vielleicht wirksam hinstellen; danach würde eine Giftbeseitigung nicht durch Neutralisation des Giftes bewirkt, wie man sich eine solche als Wirkungsweise der antitoxischen Seren gegenüber den echten Toxinen vorstellen kann, sondern durch eine Art fermentativen Abbaus, bei dem der giftige Leibesstoff der Bakterien gewissermaßen durch Verdauung in weniger giftige und ungiftige Spaltprodukte zerfällt. In viel allgemeinerer Form hat bereits früher Friedberger sich solche Verhältnisse klarzumachen versucht. Er stellt sie in seinem bekannten Sammelreferate über Anaphylaxie schematisch so dar, daß ein beliebiges Eiweiß, wenn es auf seinen Antikörper + Komplement trifft, in immer weitergehende Spaltprodukte zerfällt, die immer mehr an Spezifität verlieren; die Giftigkeit kann dabei je nach der Art des Eiweißes (Antigens überhaupt) Wandlungen durchmachen. Es kann sein, daß das Eiweiß selbst giftig ist, schon die nächste Stufe des Abbaus aber ein ungiftiges Produkt liefert, wonach der Antikörper sofort als Antitoxin erscheinen müßte. Es kann aber auch aus einem ganz oder verhältnismäßig ungiftigen Antigen durch Abbau ein hochgiftiges Spaltungserzeugnis hervorgehen (vgl. Ana-

phylatoxin), das erst eines weiteren Abbaus bedarf, um wieder so ungiftig zu werden, wie der Ausgangsstoff. Es ist bekannt, wie Friedberger auf diesem Wege dazu kam, die Erscheinungen der Anaphylaxie mit denen der Infektionskrankheit in Verbindung zu bringen, und ein Teil der folgenden Ausführungen ist geeignet, gerade diesen Teil der Friedbergerschen Anschauung in interessanter Weise zu stützen.

Wenngleich es aber einerseits nicht möglich war, auf dem Wege der Immunisierung bisher zu einer irgend befriedigenden Beseitigung des Bakterienleibesgiftes zu gelangen, so ist auf der anderen Seite wieder nicht zu verkennen, daß eine solche dem normalen Tierkörper unter besonderen Umständen in sehr auffälliger Weise gelingt. Schon seit langer Zeit ist beobachtet, daß eine unspezifische Entzündung der Bauchhöhle von Meerschweinchen sowohl die Infektion als auch die Vergiftung mit Halbparasiten in sehr günstigem Sinne zu beeinflussen vermag. Namentlich bei gleichzeitiger Anwendung des gewöhnlichen bakteriziden Immunserums ist die Widerstandskraft selbst gegen verhältnismäßig große Mengen giftiger Bakterien sehr erheblich.

Pfeiffer und Bessau sehen darin den Einfluß der unter reichlichem Zustrome von Komplement erhöhten Bakteriolyse, während Pettersson bereits die giftbindenden Eigenschaften der farblosen Blutkörperchen betonte und auch im Versuche bewies. Den die Entgiftung sicherlich begünstigenden Einfluß des bakteriziden Immunserums bezog er auf eine förderliche Einwirkung desselben auf die Phagocytose, wodurch die eingeschlossenen Bakterien gewissermaßen mechanisch an der Abgabe ihres Leibesgiftes verhindert werden. Demgegenüber konnten Pfeiffer und Bessau in sehr mühevollen Untersuchungen feststellen, daß zwar tatsächlich Phagocytose beträchtlichen Grades bestehe, daß aber doch die Hauptmasse aller Bakterien außerhalb der Zellen zur Auflösung komme, also nicht an der Abgabe ihres Giftes gehindert sein könne. Ueberdies schließen sie aus dem Ergebnis ihrer Versuche, wonach die entzündete Bauchhöhle auch gegen Endotoxinlösungen Schutz verlieh, daß der Phagocytose eine ausschlaggebende Rolle nicht zufallen könne. Bereits in einer vorhergehenden Untersuchung ist der Frage der Beseitigung des

Lösungsgiftes des *Vibrio Kadikjöji* Aufmerksamkeit zugewendet und festgestellt worden, daß die Zellen dasselbe beseitigen, wobei Erhitzen derselben diese ihre Fähigkeit vernichtet, Gefrieren sie in beträchtlichem Grade herabsetzt.

Sobald sicher war, daß die bloße Erzeugung des Lösungsgiftes die Vergiftung von Meerschweinchen mit diesem interessanten Stamme nicht restlos zu erklären vermöge, war es notwendig, das Verhalten der Zellen wie der sonstigen Entgiftungsmittel des Tieres auch gegen das sichere Leibesgift zu untersuchen. Vorarbeiten dazu bringen die früheren eigenen Untersuchungen bereits mehrfach ¹⁾.

Bezüglich der Darstellung der Versuchsreihen war ursprünglich beabsichtigt, dieselben vollständig und in der Reihenfolge ihrer Anstellung wiederzugeben. Auf diese Weise hätte die mühsame und langwierige Arbeit, die auf die Gewinnung der Ergebnisse verwendet werden mußte, samt den nicht wenigen eingeschlagenen Irrwegen, einen guten Ausdruck gefunden. Mit Rücksicht auf den Umfang der Veröffentlichung wurde von diesem Plane abgesehen, und die Wiedergabe ist nach den Hauptergebnissen abgeteilt. Diese umfassen: normale Entgiftung der Endotoxine durch Leukocyten und Wirkungsweise derselben, Beeinflussung der Zellwirkung durch die Vibrionen selbst, normale Entgiftung durch Serum und deren Wirkungsweise.

Durch frühere Untersuchungen waren bereits zwei Bestandteile des normalen Meerschweinchenkörpers bekannt, welche auf die Entgiftung von Vibrionen hinarbeiten vermögen. Normales, frisches Serum verschiedener Tiere entgiftet sie unter Umständen so vollständig, daß selbst die sonst schwer hintanzubaltende Wärmesenkung ausbleiben kann. Die Entgiftung erfolgt auch außerhalb des Tierkörpers, da mit solchem Serum behandelte Vibrionen nach Entfernung desselben giftfrei oder giftarm geworden sind. Durch Erhitzung des Serums auf 56°, wie durch vorhergehende Behandlung mit Vibrionen und auch fremden Mikroorganismen geht die entgiftende Kraft verloren.

Ein anderes normales Entgiftungsmittel stellen die Leukocyten dar, deren Wirkung besonders gegenüber dem Lösungsgift (Exotoxin) des *Vibrio Kadikjöji* studiert wurde. Auch hier wird die Zellentgiftung durch Erhitzen der Zellen, aber

1) Vgl. diese Zeitschr., Bd. 24, Heft 4; Bd. 25, Heft 3; Bd. 26, Heft 2 und Bd. 26, Heft 4.

auch durch Gefrieren mindestens herabgesetzt. Die Entgiftung erstreckt sich nicht nur auf das gelöste Gift, sondern auch auf das Leibesgift (Endotoxin), wie in einigen Versuchen in Bestätigung älterer Angaben von Pettersson gezeigt werden konnte. Mit der eingehenderen Untersuchung der Leibesgiftbeseitigung durch normale, in gewöhnlicher Weise von Meer-schweinchen gewonnene, farblose Blutzellen begannen die neuen Versuche.

Meerschw. 5 lieferte nach Einspritzung von etwa 40 ccm Bouillon am Vortage viel Exsudat, aus dem 1,1 g feuchtgewogene Leukocyten gewonnen wurden. Diese, sowie das Serum des Tieres wurden in folgender Weise verwendet:

- 1) 0,35 ccm Vibrionenaufschwemmung + 0,02 ccm Wiener Immunserum + 2,5 ccm Exsudatflüssigkeit.
- 2) Wie 1) mit 0,1 g Leukocyten.
- 3) Wie 1) mit 0,25 g Leukocyten.
- 4) Wie 1) mit 0,5 g Leukocyten.
- 5) Wie 1) + 2 ccm Serum aktiv + 0,5 ccm Exsudatflüssigkeit.
- 6) Wie 1) + 2 ccm Serum aktiv + 0,5 ccm Exsudatflüssigkeit mit 0,25 g Leukocyten.

Nach $\frac{1}{2}$ -ständigem Aufenthalte der Proben bei 37° wurden sie eingespritzt.

Meerschw. 6 mit Probe 1: 37,3, 37,6, 33,2, 31,4°, Tod nach 15 Stunden, zellarm, steril.

„ 7 mit Probe 2: 36,0, 37,1, 36,9, 35,7, 38,0°, erscheint am nächsten Tage ganz munter, stirbt aber am 3. Tage. Die Eröffnung ergab eitererfüllte Bauchhöhle mit zahlreichen kleinen Diplokokken (s. Meerschw. 8 und 9), oft in Phagocytose.

„ 8 mit Probe 3: 35,8, 37,1, 35,0, 32,4°, Tod nach 10 Stunden; Eiter mit zahllosen kleinen Diplokokken wie bei Meerschw. 7.

„ 9 mit Probe 4: 35,1, 36,6, 37,8, 35,1, 30,0°, Tod nach 15 bis 19 Stunden, Sekundärinfektion wie bei Meerschw. 7 und 8.

„ 10 mit Probe 5: 37,2, 37,0, 37,7, 37,5, 39,3°, dauernd munter.

„ 11 mit Probe 6: 36,2, 36,1, 36,9, 37,3, 38,5°, dauernd munter.

Die für die Versuche eingehaltene Technik sei hier ein- für allemal geschildert. Die Vibrionen wurden so abgeschwemmt, daß auf 1 Agar-zucht (16—20 Stunden) je 1 ccm NaCl-Lösung kam; sie wurde dann in Bruchteilen von Kubikzentimetern zugesetzt, so daß z. B. 0,35 ccm Vibrionen etwas mehr als $\frac{1}{3}$ Kultur bedeutet. Das zellhaltige Exsudat wurde dem verbluteten Meerschweinchen mit steriler Pipette entnommen, ebenso die zum Ausspülen der übrigbleibenden Zellen in die Bauchhöhle nachgegossene Kochsalzlösung. Beides wurde zentrifugiert, der Abguß des konzentrierten Exsudates ist als Exsudatflüssigkeit bezeichnet. Die aus Zellen bestehenden Bodensätze wurden in einer gewogenen Eprouvete, in Kochsalzlösung aufgeschwemmt, vereint, diese abzentrifugiert und der nach Abgießen erhaltene

Gesamtzellsatz gewogen; er wurde sodann in einer bestimmten Menge Kochsalzlösung gleichmäßig verteilt, so daß z. B. 0,1 g Zellen in 0,3 ccm Flüssigkeit enthalten war.

Wie schon der mitgeteilte erste Versuch lehrt, kamen bakterielle Verunreinigungen namentlich zu Anfang der Versuche bei mangelnder Technik vor. Nicht allzu selten erwiesen sich die Exsudate verunreinigt, und zwar fast immer durch kleine Streptokokken. Diese wandern offenbar in geringer Zahl aus dem Darne der durch die Masseneinspritzung von viel Fleischbrühe gereizten Tiere aus und schaden dem Tiere selbst kaum je. Ihre Zahl ist gering, man findet sie nur bei genauerer mikroskopischer Untersuchung, meist eng an Zellen angeschmiegt (Kontakt). Durch das wiederholte Zentrifugieren des Exsudates werden sie natürlich im schließlich erhaltenen Zellsatz angereichert und ergeben Sekundärinfektion bei der Uebertragung auf normale Tiere. Man kann im obigen Versuche sehr deutlich sehen, wie die Zellmenge von 0,1 g offenbar nur wenige solche Streptokokken enthielt, die erst sehr spät zur Wirkung gelangten, während dies bei 0,25 und 0,5 g früher der Fall war. Das für Meersch. 9 verwendete Serum enthielt keine Kokken und vermochte zusammen mit den infizierten Leukocyten ihre Infektiosität zu verhindern.

Gegen diese sozusagen normale Leukocytenverunreinigung schützt genaue mikroskopische Untersuchung. Andere Verunreinigungen, die später zu sehr empfindlichen Verlusten führten, hingen mit der Knappheit an Material, das die Zeit mit sich brachte, zusammen. So war die gelieferte, zum Verschuß der Gefäße dienende Watte derart minderwertig, daß sie schon nach einmaligem Sterilisieren sehr leicht zerfiel und ganz ungewohnt häufige Verunreinigungen der ganzen Institutsarbeiten offenbar auf den sich immer ablösenden und auf die Nährböden u. dgl. fallenden Baumwollstaub zurückzuführen waren. Auch hier wurde aber die „Kriegsschwierigkeit“ bald überwunden.

Das immer als „Wiener Immunserum“ bezeichnete, rein bakterizide Serum entstammt dem dortigen k. k. Serotherapeutischen Institute und ist hochwertiges Pferdeserum.

Die Wärmemessungen der Versuchstiere sind, wo nichts anderes bemerkt ist, von der Einspritzung an immer in 2-stündigen Zwischenräumen durchgeführt.

Trotz der Sekundärinfektion, deren Wirkung sich erst verhältnismäßig spät an der Wärmemessung erkennen läßt, ist der Versuch brauchbar und zeigt, daß 0,1 g Zellen zusammen mit bakterizidem Immunserum die Vergiftung durch eine recht ansehnliche Vibrionenmenge verhindern kann. Ebenso wirken 2 ccm des aktiven Serums allein und mit Zellen zusammen, während die zellfreie Exsudatflüssigkeit keine entgiftende Wirkung erkennen läßt.

Meerschw. 12 gibt 1,3 g Leukocyten, die lediglich in NaCl-Lösung aufgeschwemmt verwendet werden.

- 1) 0,35 ccm Aufschwemmung + 0,02 ccm Wiener Immunserum + 2,5 ccm NaCl-Lösung.
- 2) 0,35 ccm Aufschwemmung + 0,02 ccm Wiener Immunserum + 2,5 ccm NaCl-Lösung mit 0,1 g Leukocyten.
- 3) 0,52 ccm Aufschwemmung + 0,03 ccm Wiener Immunserum + 2,5 ccm NaCl-Lösung mit 0,1 g Leukocyten.
- 4) 0,52 ccm Aufschwemmung + 0,03 ccm Wiener Immunserum + 2,5 ccm NaCl-Lösung mit 0,25 g Leukocyten.
- 5) 0,7 ccm Aufschwemmung + 0,04 ccm Wiener Immunserum + 2,5 ccm NaCl-Lösung mit 0,25 g Leukocyten.
- 6) 0,7 ccm Aufschwemmung + 0,04 ccm Wiener Immunserum + 2,5 ccm NaCl-Lösung mit 0,4 g Leukocyten.

Nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Aufenthalte bei 37° wurden die Versuchsproben eingespritzt.

Meerschw. 13 mit Probe 1: 35,4, 32,1, 30,8, 30,0°, Tod nach 11 Stunden, sehr zellarm, steril.

„ 14 mit Probe 2: 37,0, 38,0, 38,5, 38,8°, dauernd munter.

„ 15 mit Probe 3: 37,6, 36,4, 37,2, 37,7°, munter, stirbt aber nach 3 Tagen mit eitriger, steriler Bauchhöhle.

„ 16 mit Probe 4: 37,5, 37,6, 38,3°, stirbt im Anschluß an diese letzte Messung, bei der das Tier sehr unruhig gewesen war. Als Todesursache fand sich ein mächtiger Bluterguß infolge Rectumperforation bei der Messung.

„ 17 mit Probe 5: 34,7, 37,2, 37,7, 38,3, 39,5°, dauernd munter.

„ 18 mit Probe 6: 34,5, 36,3, 37,6, 38,7, 39,0°, dauernd munter.

Abgesehen von dem Unglücksfalle mit Meerschw. 16, der aber insofern nicht stört, als das Tier seinen Temperaturverhältnissen nach sicher überlebt hätte, zeigt der Versuch deutlich, welche Vibrionemengen unter Umständen (nicht immer!) durch Zellen ungiftig gemacht werden können. Da die Zellen hier ganz rein, nur in NaCl-Lösung verwendet wurden, kann auch nur auf sie allein die Entgiftung bezogen werden, woraus hervorgeht, daß auch in der entzündeten Bauchhöhle der Giftschutz nicht nur auf Begleiterscheinungen, wie etwa vermehrtes Komplement, zurückzuführen ist, sondern auf die Zellen selbst bezogen werden muß.

Der Versuch war auch angestellt worden, um die Geltung des Gesetzes vom Vielfachen für die Leukocytenwirkung zu erkunden. In dieser Hinsicht zeigt allerdings wegen der außergewöhnlich starken Wirkung der Zellen nur ein Vergleich von Meerschw. 14 und 15, daß 0,1 g Zellen zwar gegen 0,35 ccm Kultur vollkommen, gegen 0,52 ccm aber nur inso-

fern schützte, als der sofortige Shöck vermieden wurde, während ein langsamer Tod nicht zu verhindern war.

Meersch. 34 gibt gerade 1 g etwas bluthaltige Leukocyten.

- 1) 0,35 ccm Aufschwemmung + 0,02 ccm Wiener Immunserum + 2,5 ccm NaCl-Lösung.
- 2) 0,35 ccm Aufschwemmung + 0,02 ccm Wiener Immunserum + 2,5 ccm NaCl-Lösung mit 0,1 g Leukocyten.
- 3) 0,7 ccm Aufschwemmung + 0,04 ccm Wiener Immunserum + 2,5 ccm NaCl-Lösung mit 0,1 g Leukocyten.
- 4) 0,7 ccm Aufschwemmung + 0,04 ccm Wiener Immunserum + 2,5 ccm NaCl-Lösung mit 0,25 g Leukocyten.
- 5) 1,05 ccm Aufschwemmung + 0,06 ccm Wiener Immunserum + 2,5 ccm NaCl-Lösung mit 0,1 g Leukocyten.
- 6) 1,05 ccm Aufschwemmung + 0,06 ccm Wiener Immunserum + 2,5 ccm NaCl-Lösung mit 0,25 g Leukocyten.

Nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Aufenthalte bei 37° eingespritzt.

Meersch. 35 mit Probe 1: 37,4, 34,4, 31,8, unter 30°, Tod nach 8 $\frac{1}{2}$ Stunden, zellarm, steril.

„ 36 mit Probe 2: 36,2, 36,7, 34,4, 33,7, 34,8°, überlebt.

„ 37 mit Probe 3: 37,1, 34,7, 32,3, 30,3, 31,8°, Tod nach 11 bis 19 Stunden, zellarm, steril.

„ 39 mit Probe 4: 36,3, 35,7, 35,5, 35,1, 37,2°, überlebt, stirbt nach 5 Tagen mit Mastdarmvorfall.

„ 38 mit Probe 5: 37,5, 33,8, unter 30°, Tod nach 8 Stunden, zellarm, steril.

„ 40 mit Probe 6: 37,0, 36,8, 35,0, 31,7, 32,8°, Tod nach 11 bis 19 Stunden, mäßig Zellen, steril.

Die starke Vergiftung, der das Kontrolltier nach 8 $\frac{1}{2}$ Stunden erlag, wird durch 0,1 g Zellen mit nur mäßiger Wärmesenkung aufgehoben; hingegen reicht diese Zellmenge für die doppelte Vibrionengabe nicht aus, die aber noch durch Vermehrung der Zellen bei Meersch. 39 wettgemacht werden kann. Gegen die dreifache Zahl Vibrionen versagen auch 0,25 g. Das Gesetz des Vielfachen kann als für die Zellentgiftung gesichert gelten. Ueber die geringste, noch wirk-same Zellmenge folgen später einige Angaben.

Die bereits früher festgestellte Aufhebung der Zellwirkung durch Abtötung der Leukocyten wurde nunmehr einer ge-naueren Untersuchung unterzogen.

Verwendet wurden die Leukocyten von Meersch. 12.

- 1) 0,35 ccm Aufschwemmung + 0,02 ccm Wiener Immunserum + 2,5 ccm NaCl mit 0,1 g Zellen, nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Aufenthalte bei 37° 3mal eingefroren und aufgetaut.
- 2) 0,1 g Zellen in 2,5 ccm NaCl + 0,02 ccm Wiener Immunserum 3mal eingefroren und wieder aufgetaut, dann mit 0,35 ccm Aufschwemmung $\frac{1}{2}$ Stunde 37°.

Meerschw. 19 mit Probe 1: 36,7, 36,1, 35,3, 35,7, 36,5°, überlebt.

„ 20 mit Probe 2: 36,6, 35,0, 32,1°, Tod nach 7 $\frac{1}{2}$ Stunden, fast zellfrei, steril.

Das Ergebnis ist von großem Interesse: Werden Zellen zuerst eingefroren, so verlieren sie ihre entgiftende Wirkung vollständig; haben sie hingegen zuerst mit Immunserum auf Vibrionen einwirken können, so bleiben die Vibrionen wirkungslos, auch wenn man die Zellen nachher einfrieren läßt. Daraus läßt sich sofort schließen, daß die Entgiftung der Vibrionen durch Zellen außerhalb des Tierkörpers zu Ende geführt wird, dieser braucht seinerseits nichts hinzuzutun. Eigene Kontrollversuche lehrten, daß die Vibrionengiftigkeit durch Gefrieren nicht verändert wird.

Es wurde im Anschlusse sofort untersucht, ob die Entgiftung durch aktives Meerschweinchenserum auch diese Hinfälligkeit gegen Einfrieren aufweist, was nicht der Fall ist.

Je 2 ccm frischen Meerschweinchenserums werden in der Probe a unverändert, in der Probe b nach 3-maligem Gefrierenlassen mit je 0,02 ccm Wiener Immunserum und je 0,35 ccm Vibrionenaufschwemmung versetzt und nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Aufenthalte bei 37° eingespritzt.

Meerschw. 22 mit Probe a: 38,2, 37,8, 36,6, 37,5, 38,1°, überlebt.

„ 23 mit Probe b: 36,9, 36,6, 35,6, 36,8, 38,0°, überlebt.

Hiermit ist ein Punkt gefunden, in dem sich die Entgiftung durch Zellen von der sonst ganz ähnlichen durch Serum unterscheidet.

Mitunter kommen Tiere vor, deren Zellen eine ungemein hohe entgiftende Wirkung haben, die bei anderen nicht in der gleichen Weise zu finden ist. Es ist noch nicht ganz klar, worauf das beruht, hat aber jedenfalls seine Ursache darin, daß die Zellen eines durch Einspritzung von Fleischbrühe erhaltenen Exsudates keineswegs immer gleichartig sind. Das eine Mal beteiligen sich daran nur kleine polynukleäre, das andere Mal sind reichlich großkernige, plasmareiche, mononukleäre beigemischt; die Bedeutung ist noch nicht genauer untersucht, wäre aber einer Bearbeitung wohl zugänglich. Ungewöhnlich starke Entgiftung ergab der folgende Versuch.

Meerschw. 21 lieferte 0,8 g Zellen, die zunächst zahlenmäßig auf ihre Entgiftung ausgewertet wurden.

1) 0,35 ccm Aufschwemmung + 0,02 ccm Wiener Immunserum + 2 ccm NaCl-Lösung.

- 2) 0,35 ccm Aufschwemmung + 0,02 ccm Wiener Immunserum + 2 ccm NaCl-Lösung mit 0,01 g Zellen.
- 3) 0,35 ccm Aufschwemmung + 0,02 ccm Wiener Immunserum + 2 ccm NaCl-Lösung mit 0,05 g Zellen.
- 4) 0,35 ccm Aufschwemmung + 0,02 ccm Wiener Immunserum + 2 ccm NaCl-Lösung mit 0,1 g Zellen.

Nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Aufenthalte bei 37° eingespritzt.

Meerschw. 24 mit Probe 1: 37,8, 32,5, 30,0°, Tod nach 6 Stunden, fast zellfrei, steril.

„ 25 mit Probe 2: 37,0, 35,3, 34,0, 34,8, 36,2°, überlebt.

„ 26 mit Probe 3: 35,3, 33,9, 33,4, 34,6, 35,2°, überlebt.

„ 27 mit Probe 4: 35,8, 36,5, 37,0, 38,2, 39,1°, überlebt.

Mit den gleichen Zellen wurden die folgenden Versuche angestellt:

- 1) 0,35 ccm Aufschwemmung + 0,02 ccm Wiener Immunserum + 0,1 g Zellen in 2 ccm NaCl erst $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann gefroren.
- 2) 0,1 g Zellen in 2 ccm NaCl erst 3mal gefroren, dann mit 0,35 ccm Aufschwemmung und 0,02 ccm Wiener Immunserum $\frac{1}{2}$ Stunde 37°.
- 3) 0,1 g Zellen in 1 ccm NaCl + 0,02 ccm Wiener Immunserum + 0,35 ccm Aufschwemmung erst $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann zentrifugiert, der Satz mit 1 ccm dest. Wasser $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, mit Abguß vereint.
- 4) 0,1 g Zellen mit 1 ccm dest. Wasser $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann mit 0,35 ccm Aufschwemmung + 0,02 ccm Wiener Immunserum in 1 ccm NaCl-Lösung $\frac{1}{2}$ Stunde 37°.
- 5) 0,1 g Zellen in 2 ccm NaCl-Lösung $\frac{1}{2}$ Stunde 56—58°, dann mit 0,35 ccm Aufschwemmung + 0,02 ccm Wiener Immunserum $\frac{1}{2}$ Stunde 37°.

Meerschw. 28 mit Probe 1: 36,5, 35,4, 36,7, 37,5, 37,7°, überlebt.

„ 29 mit Probe 2: 36,4, 33,9, 32,8, 33,3, 33,8°, Tod nach 26 Stunden, mäßig viel Zellen, steril.

„ 30 mit Probe 3: 35,5, 31,8, 30,8, 30,5, 32,4°, nach schwerster, anscheinend ganz hoffnungsloser Krankheit doch erholt.

„ 31 mit Probe 4: 37,5, 35,8, 33,7, 35,0, 36,1°, überlebt.

„ 32 mit Probe 5: 36,2, 34,3, 32,6, 32,4, 32,0°, Tod nach 12 bis 20 Stunden, wenig Zellen, steril.

In diesem Versuche vermochte somit schon die ganz geringe Menge von 0,01 g Zellen das in über $\frac{1}{3}$ Kultur vorhandene Endotoxin unschädlich zu machen. Die 10-fache Zellmenge wird aber durch 3-maliges Einfrieren oder $\frac{1}{2}$ -stündige Erwärmung auf 56° unwirksam gemacht. Daß ein Rest von Schutz auch da noch zu erkennen ist, ist ohne Schwierigkeit auf die ungewöhnlich starke Zellentgiftung zurückzuführen; praktisch kann man von einer Zerstörung der entgiftenden Zellwirkung reden. Dabei bestätigt sich der vorige Versuch, bei dem die durch $\frac{1}{2}$ -stündige Einwirkung von Zellen auf Vibrionen außerhalb des Tierkörpers eingetretene Entgiftung das nachträgliche Einfrieren überdauert.

Die in den Proben 3 und 4 (Meerschw. 30 und 31) untersuchte Einwirkung osmotischer Störungen auf die entgiftende Fähigkeit der Leukocyten soll hier kurz erledigt werden. Es überlebte sowohl das Tier, bei dem destilliertes Wasser auf Zellen nach der Behandlung mit Vibrionen eingewirkt hatte, wie jenes, bei dem vor Zusatz der Vibrionen die Zellschädigung durch destilliertes Wasser stattgefunden hatte. Der Versuch wurde in mannigfacher Abänderung weiter verfolgt, weil er die Möglichkeit zu eröffnen schien, auf dem Wege osmotischer Zellzerstörung die entgiftenden Stoffe derselben in Freiheit zu setzen, also sozusagen zu einer normalen Antiendotoxinlösung zu gelangen. Es war aber nicht möglich, ein bestimmtes derartiges Ergebnis zu erhalten, und trotz einiger günstiger Versuche scheint es ziemlich sicher, daß die Zellstoffe, auf denen die giftwidrige Wirkung beruht, durch Schädigung der Zellen in Wasser nicht in nennenswerter Weise in Lösung gehen, daß sie aber andererseits durch bloße osmotische Wirkungen in den Zellen nicht zerstört, höchstens etwas geschädigt werden (vgl. weiter unten Meerschw. 91—94).

Die Zerstörung der Zellentgiftung durch Gefrieren und Erwärmen ist aber keine vollkommene. Zunächst ließ sich zeigen, daß Zusatz von aktivem Serum zu Zellen diese vor den nachteiligen Folgen des Eingefrierens zu schützen vermag.

- 1) (0,1 g Zellen + 2 ccm NaCl-Lösung) 3mal gefroren + 0,35 ccm Aufschwemmung + 0,02 ccm Wiener Immunserum $\frac{1}{2}$ Stunde 37°.
- 2) (0,1 g Zellen + 1,75 ccm NaCl Lösung + 0,25 ccm Meerschw.-Serum akt.) 3mal gefroren, dann wie 1).
- 3) (0,1 g Zellen + 1,25 ccm NaCl-Lösung + 0,75 ccm Meerschw.-Serum akt.) 3mal gefroren, dann wie 1).
- 4) (2 ccm NaCl-Lösung) 3mal gefroren, dann wie 1).
- 5) (1,75 ccm NaCl-Lösung + 0,25 ccm Meerschw.-Serum akt.) 3mal gefroren, dann wie 1).
- 6) (1,25 ccm NaCl-Lösung + 0,75 ccm Meerschw.-Serum akt.) 3mal gefroren, dann wie 1).

Meerschw. 47 mit Probe 1: 36,5, 34,2, 33,3, 33,1, 31,3°, Tod in der Nacht, mäßig Zellen, steril.

„ 48 mit Probe 2: 37,8, 37,4, 37,0, 33,2, 39,0°, überlebt.

„ 49 mit Probe 3: 36,0, 36,3, 36,2, 37,0, 38,1°, überlebt.

„ 50 mit Probe 4: 37,0, 35,6, 31,8, 31,4, 30,8°, Tod in der Nacht, wenig Zellen, steril.

„ 51 mit Probe 5: 37,5, 35,6, 32,3, 30,8, 30,8°, Tod in der Nacht, mäßig Zellen, steril.

„ 52 mit Probe 6: 37,1, 36,5, 35,7, 36,6, 37,2°, überlebt.

Das aktive Meerschweinchenserum, dessen Schutzwirkung, wie bereits früher gezeigt, Einfrieren erträgt, vermochte in der Menge von $\frac{3}{4}$ ccm an sich zu schützen, so daß das Ueberleben von Meerschw. 49 nichts Auffallendes ist. Mit $\frac{1}{4}$ ccm war es jedoch zu einer Entgiftung nicht befähigt (Meerschw. 51), ebensowenig wie die gefrorenen Zellen (Meerschw. 47), die Mischung beider aber hatte Meerschw. 48 noch ohne besondere Wärmesenkung retten können.

Wichtiger als dieser Befund war, daß erhitzte oder gefrorene, also unwirksam gemachte Zellen nach Zusatz verhältnismäßig geringer Mengen von aktivem Serum wieder zu entgiften vermochten.

Meerschw. 82 lieferte 1,2 g Leukocyten, sowie das Serum zum Versuche.

- 1) 0,1 g Zellen + 0,02 ccm Wiener Immunserum + 0,25 ccm Aufschwemmung + 0,25 ccm Meerschw.-Serum $\frac{1}{2}$, Stunde 56°.
- 2) 0,1 g Zellen + 0,02 ccm Wiener Immunserum + 0,25 ccm Aufschwemmung + 0,25 ccm Meerschw.-Serum aktiv.
- 3) (0,1 g Zellen + 0,02 ccm Wiener Immunserum) $\frac{1}{2}$, Stunde 56° + 0,25 ccm Aufschwemmung + 0,25 ccm Meerschw.-Serum $\frac{1}{2}$, Stunde 56°.
- 4) (0,1 g Zellen + 0,02 ccm Wiener Immunserum) $\frac{1}{2}$, Stunde 56° + 0,25 ccm Aufschwemmung + 0,25 ccm Meerschw.-Serum aktiv.
- 5) 0,1 g Zellen + 0,02 ccm Wiener Immunserum + 0,4 ccm Aufschwemmung + 0,25 ccm Meerschw.-Serum $\frac{1}{2}$, Stunde 56°.
- 6) 0,1 g Zellen + 0,02 ccm Wiener Immunserum + 0,4 ccm Aufschwemmung + 0,25 ccm Meerschw.-Serum aktiv.
- 7) 0,1 g Zellen + 0,02 ccm Wiener Immunserum + 0,6 ccm Aufschwemmung + 0,25 ccm Meerschw.-Serum $\frac{1}{2}$, Stunde 56°.
- 8) 0,1 g Zellen + 0,02 ccm Wiener Immunserum + 0,6 ccm Aufschwemmung + 0,25 ccm Meerschw.-Serum aktiv.
- 9) 0,1 g Zellen in 2 ccm dest. Wasser $\frac{1}{2}$, Stunde 37°, dann besalzen + 0,02 ccm Wiener Immunserum + 0,25 ccm Aufschwemmung + 0,25 ccm Meerschw.-Serum $\frac{1}{2}$, Stunde 56°.
- 10) Wie No. 9, aber mit 0,25 ccm Meerschw.-Serum aktiv.
- 11) 0,1 g Zellen in 2 ccm dest. Wasser $\frac{1}{2}$, Stunde 37°, dann zentrifugiert, Abguß besalzen + 0,02 ccm Wiener Immunserum + 0,25 ccm Aufschwemmung + 0,25 ccm Meerschw.-Serum $\frac{1}{2}$, Stunde 56°.
- 12) Wie No. 11 mit 0,25 ccm Meerschw.-Ser. aktiv.
- 13) 2 ccm NaCl-Lösung + 0,02 ccm Wiener Immunserum + 0,25 ccm Aufschwemmung + 0,25 ccm Meerschw.-Serum $\frac{1}{2}$, Stunde 56°.
- 14) 2 ccm NaCl-Lösung + 0,02 ccm Wiener Immunserum + 0,25 ccm Aufschwemmung + 0,25 ccm Meerschw.-Serum aktiv.

Meerschw. 83 mit Probe 1: 37,8, 37,8, 37,7, 38,2, 36,5°, das Tier zeigte keine Krankheit, starb aber nach etwa 20 Stunden mit Eiter in der Bauchhöhle an Sekundärinfektion.

„ 84 mit Probe 2: 37,0, 37,1, 36,7, 37,6, 38,6°, überlebt.

- Meerschw. 85** mit Probe 3: 34,0, 34,7, 34,5, 32,8, 32,5°, starb nach 12 bis 20 Stunden, zellarm, steril.
- „ **86** mit Probe 4: 36,7, 37,3, 34,1, 34,8, 35,7°, überlebt.
- „ **87** mit Probe 5: 36,9, 35,4, 32,7, 32,2°, Tod nach 8 1/2 Stunden, zellarm, steril.
- „ **88** mit Probe 6: 38,8, 38,0, 37,3, 38,7, 39,7°, überlebte ohne Krankheit, starb aber 48 Stunden später an Sekundärinfektion mit Kokken.
- „ **89** mit Probe 7: 37,7, 36,3, 34,5, 33,5, 33,0°, Tod nach 29 Stunden, ziemlich zahlreiche Zellen, vereinzelte Kokken.
- „ **90** mit Probe 8: 39,0, 37,2, 36,8, 38,0, 38,0°, überlebt.
- „ **91** mit Probe 9: 38,1, 36,9, 36,7, 38,2, 38,2°, überlebt.
- „ **92** mit Probe 10: 37,5, 36,8, 36,7, 38,6, 39,3°, überlebt.
- „ **93** mit Probe 11: 37,3, 35,0, 32,6, 31,2°, Tod nach 8 Stunden, zellarm, steril.
- „ **94** mit Probe 12: 37,5, 34,8, 32,8, unter 30°, Tod nach 8 1/2 Stunden, zellarm, steril.
- „ **95** mit Probe 13: 35,8, 32,7, unter 30°, Tod nach 7 1/2 Stunden, zellarm, steril.
- „ **96** mit Probe 14: 37,3, 35,0, 31,4°, Tod nach 8 Stunden, zellarm, steril.

Die Proben 9—12 (Meerschw. 91—94) beweisen zunächst das oben über die osmotische Zerstörung der Zellen und deren Einfluß auf das Entgiftungsvermögen Gesagte. Die Tiere 83 und 84 zeigen den Schutz, den Zellen an sich, ohne Rücksicht darauf, ob inaktives oder aktives Meerschweinchenserum zugesetzt ist, gewähren. Meerschw. 95 und 96 beweisen die Giftigkeit der Vibrionen, die durch 0,25 ccm aktiven Meerschweinchenserums nicht beeinträchtigt wird. Meerschw. 85 zeigt die Schädigung, welche die Zellen durch die Erwärmung auf 56° erlitten haben, während Meerschw. 86 zeigt, wie durch die an sich ganz unwirksame Menge von 0,25 ccm aktiven Meerschweinchenserums eine Ergänzung der verlorenen Entgiftung erzielt werden kann. Von bedeutendem Interesse ist ferner, daß 0,1 g Zellen gegen die Erhöhung der Vibrionemenge unter Zusatz von inaktivem Serum nicht mehr zu schützen vermag, wohl aber, wenn das zugefügte Serum aktiv ist; in diesem Falle reicht es selbst gegen die fast dreifache Vibrionemenge aus.

Es tritt somit ein Zusammenwirken, bzw. eine Ergänzung von Zellen und aktivem Serum in doppelter Weise hervor: beide zusammen werden mit Vibrionemengen fertig, zu deren Bewältigung jedes einzelne unfähig ist, und Zerstörung der Zellwirkung durch den äußeren Eingriff der Erhitzung kann

durch Zusatz geringer Mengen aktiven Serums wieder wettgemacht werden.

Leider fielen eine ganze Reihe das Gleiche beweisender Versuche in die Zeit, wo die Technik mit Verunreinigungen zu kämpfen hatte, so daß immer ein oder das andere Tier aus den Reihen ausfiel.

Bei der Fortsetzung derselben konnte eine nicht unwichtige Beobachtung gemacht werden. Dieselbe war veranlaßt durch Mitverwendung des antitoxischen Schafserums III, über welches bereits früher¹⁾ berichtet wurde. Dasselbe war durch Vorbehandlung eines Schafes mit Auszügen des *Vibrio Kadikjöji* gewonnen und vermochte das in solchen enthaltene Lösungsgift sehr gut, das Leibesgift in Vibrionen hingegen nur wenig zu beeinflussen. Es wurde den eingespritzten Bacillen zugesetzt, um das ihnen von der Agarzucht her (Kondenswasser) anhaftende Lösungsgift unschädlich zu machen.

Meersch. 125 ergab fast 1,4 g Leukocyten.

- 1) 0,01 g Zellen in 2 ccm NaCl-Lösung + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,01 ccm Serum III + 0,25 ccm Meersch.-Serum $\frac{1}{2}$, Stunde 56°.
- 2) 0,01 g Zellen in 2 ccm NaCl-Lösung + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,01 ccm Serum III + 0,25 ccm Meersch.-Serum aktiv.
- 3) 0,05 g Zellen in 2 ccm NaCl-Lösung + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,01 ccm Serum III + 0,25 ccm Meersch.-Serum $\frac{1}{2}$, Stunde 56°.
- 4) 0,05 g Zellen in 2 ccm NaCl-Lösung + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,01 ccm Serum III + 0,25 ccm Meersch.-Serum aktiv.
- 5) 0,1 g Zellen in 2 ccm NaCl-Lösung + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,01 ccm Serum III + 0,25 ccm Meersch.-Serum $\frac{1}{2}$, Stunde 56°.
- 6) 0,1 g Zellen in 2 ccm NaCl-Lösung + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,01 ccm Serum III + 0,25 ccm Meersch.-Serum aktiv.
- 7) (0,1 g Zellen in 2 ccm NaCl-Lösung) $\frac{1}{2}$, Stunde 56° + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,01 ccm Serum III + 0,25 ccm Meersch.-Serum $\frac{1}{2}$, Stunde 56°.
- 8) (0,1 g Zellen in 2 ccm NaCl-Lösung) $\frac{1}{2}$, Stunde 56° + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,01 ccm Serum III + 0,25 ccm Meersch.-Serum aktiv.
- 9) (0,1 g Zellen in 2 ccm NaCl-Lösung) 3mal gefroren + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,01 ccm Serum III + 0,25 ccm Meersch.-Serum $\frac{1}{2}$, Stunde 56°.
- 10) (0,1 g Zellen in 2 ccm NaCl-Lösung) 3mal gefroren + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,01 ccm Serum III + 0,25 ccm Meersch.-Serum aktiv.
- 11) (0,1 g Zellen in 2 ccm NaCl-Lösung + 0,25 ccm Meersch.-Serum $\frac{1}{2}$, Stunde 56°) 3mal gefroren + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,01 ccm Serum III.
- 12) Wie No. 11, aber mit aktivem Meersch.-Serum eingefroren.
- 13) 2 ccm NaCl-Lösung + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,01 ccm Serum III + 0,25 ccm Meersch.-Serum aktiv.

1) Diese Zeitschr., Bd. 26, Heft 2.

Jede Probe erhielt einen Zusatz von 0,25 ccm Vibrionenaufschwemmung und stand vor der Einspritzung $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° im Wasserbade.

Meerschw. 126 mit Probe 1: 38,7, 35,7, 34,0, 35,9, 39,6°, überlebt.
 „ 127 mit Probe 2: 37,0, 36,1, 35,5, 36,7, 38,0°, überlebt.
 „ 128 mit Probe 3: 38,7, 37,6, 37,9, 39,2, 40,0°, überlebt.
 „ 129 mit Probe 4: 36,7, 36,4, 36,3, 38,6, 39,2°, überlebt.
 „ 130 mit Probe 5: 37,5, 37,2, 36,1, 38,6, 39,6°, überlebt.
 „ 131 mit Probe 6: 38,6, 38,2, 37,9, 39,0, 39,4°, überlebt.
 „ 132 mit Probe 7: 38,8, 36,0, 33,8, 33,7, 34,7°, Tod nach 31 Stunden, eitrig, steril.
 „ 133 mit Probe 8: 37,6, 37,6, 36,7, 38,0, 38,0°, überlebt.
 „ 134 mit Probe 9: 37,4, 37,0, 33,3, 33,7, 35,7°, am nächsten Tage sehr krank, stirbt nach 48 Stunden, eitrig, steril.
 „ 135 mit Probe 10: 37,0, 35,8, 35,2, 37,2, 38,5°, überlebt.
 „ 136 mit Probe 11: 38,0, 34,5, 32,3, 34,0, 34,0°, Tod nach 11 bis 19 Stunden, mäßig viel Zellen, steril.
 „ 137 mit Probe 12: 36,6, 35,5, 33,4, 34,8, 36,4°, überlebt.
 „ 139 mit Probe 13: 38,1, 35,2, unter 30°, Tod nach 8 Stunden, zellarm, steril.

Unter dem Einflusse des zugesetzten Serum III wirken schon sehr geringe Mengen von Zellen, die sonst nur ausnahmsweise vollständig zu entgiften vermögen. Auf diese Verstärkung ist es wohl auch zurückzuführen, daß erhitzte und gefrorene Leukocyten nicht vollkommen unwirksam sind, sondern noch eine gewisse Entgiftung bewirken, wenn sie auch nicht imstande sind, den Tod der Versuchstiere 132 und 134 zu verhindern. Aber man sieht dafür um so besser, wie Zusatz von aktivem Serum bei den Tieren 133 und 135 den Verlust an Entgiftung ersetzt. Wohl auf das Gleiche läuft die Erscheinung hinaus, daß der Zusatz von aktivem Serum vor dem Einfrieren die Zellwirkung vor Zerstörung schützt (Meerschw. 137), was inaktiviertes Serum zu tun nicht imstande ist (Meerschw. 136).

Meerschw. 225 gibt 0,8 g Leukocyten.

- 1) 0,1 g Zellen in 1,5 ccm NaCl-Lösung + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,3 ccm Meerschw.-Serum $\frac{1}{2}$ Stunde 56°.
- 2) 0,1 g Zellen in 1,5 ccm NaCl-Lösung + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,3 ccm Meerschw.-Serum aktiv.
- 3) (0,1 g Zellen in 1,5 ccm NaCl-Lösung) $\frac{1}{2}$ Stunde 56° + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,3 ccm Meerschw.-Serum $\frac{1}{2}$ Stunde 56°.
- 4) (0,1 g Zellen in 1,5 ccm NaCl-Lösung) $\frac{1}{2}$ Stunde 56° + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,3 ccm Meerschw.-Serum aktiv.
- 5) (0,1 g Zellen in 1,5 ccm NaCl-Lösung) 3mal gefroren + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,3 ccm Meerschw.-Serum $\frac{1}{2}$ Stunde 56°.
- 6) (0,1 g Zellen in 1,5 ccm NaCl-Lösung) 3mal gefroren + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,3 ccm Meerschw.-Serum aktiv.

Den Proben werden je 0,22 ccm Vibrionenaufschwemmung zugesetzt, welche für 1 Kultur 0,33 ccm Serum III enthielt; nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Verweilen bei 37° eingespritzt.

- Meerschw. 226 mit Probe 1: 37,0, 37,0, 35,2, 36,3, 37,8°, überlebt.
 „ 227 mit Probe 2: 38,1, 37,8, 37,8, 39,3, 40,0°, überlebt.
 „ 228 mit Probe 3: 36,8, 34,0, 32,6°, Tod nach $6\frac{1}{2}$ Stunden, fast zellfrei, steril.
 „ 229 mit Probe 4: 37,8, 33,8, 32,5, 33,3, 32,4°, Tod in der Nacht, viele Zellen, im Exsudat kapseltragende Stäbchen.
 „ 230 mit Probe 5: 36,4, 33,4, 30,6, unter 30°, Tod nach etwa 10 Stunden, zellarm, steril.
 „ 231 mit Probe 6: 38,7, 36,5, 35,5, 36,7, 37,8°, überlebt.

Die Sekundärinfektion von 229 stört den Versuch einigermaßen, doch läßt die Erhöhung der Körperwärme, welche nach einem Sinken auf 32,5° bis zu 33,3° eingetreten war, den Schluß zu, daß das Tier sich ohne die jetzt einsetzende Infektion erholt hätte.

Der folgende Versuch zeigt, daß sowohl die Wirkung von Zellen wie die ergänzende Wirkung von Serum schon gegen viel niedrigere Wärmegrade als die üblichen 56° empfindlich ist.

Meerschw. 235 liefert nur 0,4 g Leukocyten.

- 1) 0,1 g Zellen in 1,5 ccm NaCl-Lösung + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,25 ccm Aufschwemmung + 0,25 ccm Meerschw.-Serum $\frac{1}{2}$ Stunde 56°.
- 2) 0,1 g Zellen in 1,5 ccm NaCl-Lösung $\frac{1}{2}$ Stunde 48° + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,25 ccm Aufschwemmung + 0,25 ccm Meerschw.-Serum $\frac{1}{2}$ Stunde 56°.
- 3) 0,1 g Zellen in 1,5 ccm NaCl-Lösung $\frac{1}{2}$ Stunde 48° + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,25 ccm Aufschwemmung + 0,25 ccm Meerschw.-Serum $\frac{1}{2}$ Stunde 48°.
- 4) 0,1 g Zellen in 1,5 ccm NaCl-Lösung $\frac{1}{2}$ Stunde 48° + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,25 ccm Aufschwemmung + 0,25 ccm Meerschw.-Serum aktiv.
- 5) 1,5 ccm NaCl-Lösung + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,25 ccm Aufschwemmung + 0,25 ccm Meerschw.-Serum aktiv.

- Meerschw. 236 mit Probe 1: 31,7 (Tier ganz schlaff), 32,2, 33,6, 33,7, 36,4°, überlebt.
 „ 237 mit Probe 2: 36,0, 34,3, 32,0, 31,4, 32,0°, Tod in der Nacht, zellarm, steril.
 „ 238 mit Probe 3: 34,9, 34,0, 30,1, unter 30°, Tod nach 9 Stunden, zellarm, steril.
 „ 239 mit Probe 4: 36,6, 37,2, 33,5, 33,3, 37,1°, überlebt.
 „ 240 mit Probe 5: 36,5, 34,8, 31,1, unter 30°, Tod nach 10 Stunden, zellarm, steril.

Es genügen somit 48°, um sowohl die Entgiftung durch Zellen wie die durch Serum aufzuheben. Der merkwürdige Wärmesturz von Meerschw. 236 innerhalb kurzer Zeit wird

als Zeichen anaphylaktischen Shocks später seine Erklärung finden.

Nicht ohne Interesse und wahrscheinlich auch von Bedeutung ist es, daß unter dem Einflusse von Serum III das Gefrieren der Zellen nicht ausreichte, um ihre entgiftende Wirkung aufzuheben.

Leukocyten von Meersch. 140.

- 1) (0,06 g Zellen in 2 ccm NaCl) $\frac{1}{2}$, Stunde 56° + 0,1 ccm Serum III + 0,01 ccm Wiener Immuns Serum + 0,25 ccm Aufschwemmung + 0,25 ccm Meersch.-Serum $\frac{1}{2}$, Stunde 56°.
- 2) Ebenso, aber das zugesetzte Meerschweinchenserum aktiv und 3mal gefroren.
- 3) Ebenso, aber das zugesetzte Meerschweinchenserum aktiv, unverändert.
- 4) Genau wie 1), aber die Zellen statt erhitzt 3mal gefroren.
- 5) Genau wie 2) mit 3mal gefrorenen Zellen.
- 6) Genau wie 3) mit 3mal gefrorenen Zellen.

Meersch. 150 mit Probe 1: 31,4, 32,5, 32,1, 32,0°, Tod nach 10 Stunden, zellarm, steril.

- „ 151 mit Probe 2: 37,3, 35,7, 33,3, 34,4, 34,8°, überlebt.
- „ 152 mit Probe 3: Das Tier stirbt nach etwa $\frac{3}{4}$ Stunden anaphylaktisch.
- „ 153 mit Probe 4: 38,2, 36,4, 34,2, 35,3, 36,0°, überlebt.
- „ 154 mit Probe 5: 36,8, 35,1, 35,5, 36,3, 37,6°, überlebt.
- „ 155 mit Probe 6: 38,6, 37,6, 37,1, 37,6, 37,0°, überlebt.

Hier hatte das Gefrieren den Zellen nur insofern etwas geschadet, als sie eine im ganzen nur mäßige Wärmesenkung nicht zu verhindern vermochten, die nach Ergänzung mit aktivem oder aktiv gefrorenem Serum ausblieb. Hingegen hatte Erwärmung auf 56° jede Zellwirkung vernichtet, und erst Zusatz von aktivem, gefrorenem Serum stellte sie wieder her, allerdings nicht ohne Wärmesenkung. Der rasche Tod von Meersch. 152 wird später Besprechung finden.

Mindestens läßt sich aus solchen Befunden schließen, daß das Eingefrieren für die entgiftenden Zellwirkungen weit weniger schädlich ist, als das Erhitzen; gewisse, noch nicht ganz klargestellte Erscheinungen lassen es als möglich erscheinen, daß das Erhitzen überhaupt anders wirkt als das Gefrieren.

Es darf nicht verschwiegen werden, daß in einigen Versuchen, namentlich dann, wenn die Zellen überhaupt weniger wirkten (starke Wärmesenkung bei den Versuchstieren), oder wenn mehr als die einfach tödliche Vibrionendosis genommen

wurde, die Ergänzung erhitzter Zellen durch aktives Serum nicht recht gelingen wollte. Dennoch dürfte der Nachweis, daß die Entgiftung kein einfacher, sondern ein zusammengesetzter Vorgang ist, als erbracht gelten. Die Schwierigkeiten dabei sind denen zu vergleichen, die man hatte, als es sich um den Beweis der komplexen Natur der normalen Bakteriolyse handelte, und die bei Verwendung eines künstlichen hochwertigen Immunserums nicht auftreten. Es ist natürlich daraufhin noch nicht zu behaupten, daß Entgiftung und Bakteriolyse identische Vorgänge seien; wenn aber das zu suchende Antiendotoxin dem natürlichen gleicht, so wird man keine Antitoxine wie die von echten Toxinbildnern zu erwarten haben.

Es lag nahe, ähnliche Verhältnisse auch für die Entgiftung der Vibrionen durch aktives Normalserum anzunehmen, also auch hier das Zusammenwirken eines beständigen und eines hinfalligen Anteils. Wie bereits in einer früheren Arbeit erwähnt wurde, ist bisher die Ergänzung eines durch Erhitzen unwirksam gewordenen Serums nicht gelungen, und auch die seither erzielten Ergebnisse sind wenig ermutigend. Nur unter Anwendung des antitoxischen Serums III sind einige Andeutungen erhalten worden, daß auch die Serumentgiftung komplex sein könnte.

Es wird ganz frisches aktives Meerschweinchenserum verwendet.

- 1) 1,5 ccm Meersch.-Serum aktiv + 0,1 ccm Normalschafserum + 0,3 ccm Aufschwemmung $\frac{1}{4}$ Stunde 37°, dann mit 0,01 ccm Wiener Immunserum $\frac{1}{4}$ Stunde 37°.
- 2) Ganz wie No. 1 mit 0,1 ccm Serum III.
- 3) 1,5 ccm Meersch.-Serum $\frac{1}{4}$ Stunde 55° + 0,1 ccm Normalschafserum + 0,3 ccm Aufschwemmung $\frac{1}{4}$ Stunde 37°, dann mit 0,01 ccm Wiener Immunserum und 0,5 ccm Meersch.-Serum aktiv $\frac{1}{4}$ Stunde 37°.
- 4) Genau wie 3) mit 0,1 ccm Serum III.

Meersch. 634 mit Probe 1: nach 4 Stunden 32,6°, nach 7 Stunden 33,3°, überlebt.
 „ 635 mit Probe 2: nach 4 Stunden 34,1°, nach 7 Stunden 35,8°, überlebt.
 „ 636 mit Probe 3: nach 4 Stunden 28,0°, nach 7 Stunden 27,8°, Tod nach 11 Stunden.
 „ 637 mit Probe 4: nach 4 Stunden 33,7°, nach 7 Stunden 32,6°, überlebt zunächst, stirbt aber am 3. Tage mit eitriger, steriler Bauchhöhle.

Durch aktives Meerschweinchenserum war also an sich eine teilweise (starker Wärmesturz), durch dasselbe mit Serum III

eine ziemlich vollständige Entgiftung erfolgt. Nach Erhitzen war das Serum an sich ganz unwirksam geworden und wurde durch Zusatz von 0,5 ccm aktiven Serums nicht ergänzt; war jedoch die Einwirkung desselben auf Vibrionen unter Zusatz von Serum III erfolgt, so rief nachheriger Zusatz von 0,5 ccm aktiven Serums eine gewisse entgiftende Wirkung hervor.

Diesem halbwegs positiven, wenn auch dürftigen Ergebnisse stehen nur noch zwei andere zur Seite, bei denen die Entgiftung durch inaktives Serum, ergänzt durch geringe Mengen aktiven Serums, zu einer Lebensverlängerung der Versuchstiere auf etwas mehr als 24 Stunden führte. Alle sonstigen Versuche waren vergeblich. Es kann daher die komplexe Natur der Serumentgiftung nicht als bewiesen, nur als wahrscheinlich bezeichnet werden.

Was nun die Wirkung des antitoxischen, an sich so wenig gegen Leibesgift wirksamen Serums III bei der Entgiftung von Vibrionen durch Zellen betrifft, so geben die folgenden Versuche Beispiele dafür.

Leukocyten von Meersch. 140.

- 1) 0,01 g Zellen in 0,1 ccm NaCl-Lösung + 1,9 ccm NaCl-Lösung + 0,1 ccm Normalschafserum + 0,25 ccm Meersch.-Serum inaktiv.
- 2) Ebenso mit 0,1 ccm Serum III.
- 3) Wie 1), aber mit 0,25 ccm Meersch.-Serum aktiv.
- 4) Ebenso mit 0,1 ccm Serum III.
- 5) bis 8) Genau wie die Proben 1) bis 4), aber mit je 0,05 g Zellen.
- 9) 2 ccm NaCl-Lösung + 0,1 ccm Serum III + 0,25 ccm Meersch.-Serum aktiv.

Alle Proben erhalten einen Zusatz von je 0,01 ccm Wiener Immunsérum und je 0,25 ccm Vibrionen und werden nach $\frac{1}{2}$ -ständigem Aufenthalt im Wasserbade von 37° eingespritzt.

- Meersch. 141 mit Probe 1: 33,7, 32,8, 31,8, 31,6, 30,2°, Tod nach 10 Stunden, zellarm, steril.
- „ 142 mit Probe 2: 36,4, 35,2, 36,0, 36,8, 37,0°, überlebt.
- „ 143 mit Probe 3: 36,7, 33,4, 32,0, unter 30°, Tod nach 9 Stunden, zellarm, steril.
- „ 144 mit Probe 4: 37,6, 35,5, 35,1, 34,8, 36,2°, überlebt.
- „ 145 mit Probe 5: 34,5, 32,6, 32,1, 30,2°, Tod nach 9 $\frac{1}{2}$ Stunden, zellarm, steril.
- „ 146 mit Probe 6: 38,2, 36,4, 35,6, 37,2, 37,5°, überlebt.
- „ 147 mit Probe 7: 37,2, 34,4, 35,0, 35,3, 34,4°, schien hoffnungslos, überlebte aber doch.
- „ 148 mit Probe 8: 37,1, 36,5, 36,5, 37,8, 39,0°, überlebt.
- „ 149 mit Probe 9: 36,7, 34,1, 33,0, 32,5, 32,3°, lebte in sehr elendem Zustande 37 Stunden, Bauchhöhle eitrig, steril.

2*

Der Versuch zeigt zunächst aufs deutlichste den Einfluß der Anwendung von Serum III. Nur ihm ist es offenbar zuzuschreiben, daß die Tiere 142 und 144 lediglich mit etwas Wärmesenkung davorkamen, während 141 und 143 ohne Serum III in kurzer Zeit starben und dadurch eine um so wertvollere Kontrolle abgaben, als das Tier 149 ohne Zellen, aber mit aktivem Meerschweinchenserum und Serum III verhältnismäßig lange überlebte, worin man wohl sicher die bereits bekannte, an sich etwas schützende Wirkung des antitoxischen Serums zu erblicken hat. Die Zellmenge von 0,01 g kann also nur durch Serum III schützend gemacht werden. Bei Verwendung der fünffachen Menge von Leukocyten ist überdies der Einfluß des aktiven Meerschweinchenserums erkennbar, dem man es zuschreiben muß, daß Meerschw. 147 schließlich überlebte, Meerschw. 145 in kurzer Zeit starb. Bei Zusatz von Serum III zu 0,05 g Leukocyten ist der Einfluß des Meerschweinchenserums begreiflicherweise nicht mehr zu erkennen (Meerschw. 146 und 148).

Worauf diese die Zellentgiftung so ungemein steigernde Wirkung des antitoxischen Serums III zurückzuführen war, konnte lange Zeit nicht recht ermittelt werden, besonders da bei den diesbezüglichen Versuchen eine Erscheinung auftrat, die bereits früher manchmal, aber nur unvollständig beobachtet worden war. Es war vorgekommen, daß Tiere nach der Einspritzung von Versuchsproben in die Bauchhöhle sehr bald tot aufgefunden wurden, ohne daß die Eröffnung außer starker Rötung von Darm und Magen etwas Besonderes zu ergeben schien. Bei dem Tiere No. 152 (s. p. 17) konnte aber beobachtet werden, wie sich etwa 40 Minuten nach der Einspritzung lebhaft Unruhe einstellte — auch das bekannte Nasenkratzen fehlte nicht — der sich bald Sprungkrämpfe von großer Heftigkeit, erschwerte Atmung, kurz das ganze Bild des anaphylaktischen Shocks anschloß. Die Eröffnung ergab starke Rötung von Darm und Magen, wenig klare, zellfreie, auch vibrionen- und granulafreie Flüssigkeit, starke Blähung der blassen Lungen, die das etwa $\frac{1}{4}$ Stunde nach dem Tode noch schlagende Herz fast ganz überlagerten. Krankheitsbild und Todesbefund wiesen also mit aller Bestimmtheit auf Anaphylaxie als Todesursache hin, und da von einer

solchen bei dem ganz frischen, ungebrauchten, 200 g schweren Tiere infolge einer Vorbehandlung keine Rede sein konnte, konnte nur eine Anaphylatoxinbildung vorliegen, die im Glase bei der Einwirkung der verschiedenen Versuchsflüssigkeiten auf die Vibrionen stattgefunden hatte. Was zunächst nur ein interessanter Nebebefund war, erwies sich bald als häufige Erscheinung.

Meerschw. 156 gibt 0,7 g schöne, blutfreie Leukozyten.

- 1) 0,25 ccm Serum III.
- 2) Ebenso mit 0,001 g Zellen.
- 3) Ebenso mit 0,01 g Zellen.
- 4) 0,25 ccm cholerabehandeltes Serum III + 0,01 g Zellen.
- 5) 0,1 ccm Serum III.
- 6) Ebenso mit 0,001 g Zellen.
- 7) Ebenso mit 0,01 g Zellen.
- 8) 0,1 ccm cholerabehandeltes Serum III + 0,01 g Zellen.
- 9) 0,1 ccm Serum III + 0,05 g Zellen.
- 10) 0,1 ccm cholerabehandeltes Serum III + 0,05 g Zellen.
- 11) 0,01 ccm Serum III + 0,001 g Zellen.
- 12) Ebenso mit 0,01 g Zellen.
- 13) Ebenso mit 0,05 g Zellen.
- 14) 0,01 ccm cholerabehandeltes Serum III + 0,05 g Zellen.
- 15) 0,25 ccm Normalschafserum + 0,01 g Zellen.
- 16) Ebenso mit 0,05 g Zellen.

Jeder Probe wird je 0,01 ccm Wiener Immunserum und 0,3 ccm Vibrionenaufschwemmung zugesetzt, mit NaCl-Lösung auf 2,5 ccm aufgefüllt und nach $\frac{1}{4}$ -stündigem Verweilen im Wasserbade von 37° eingespritzt. Das cholerabehandelte Serum wurde so dargestellt, daß am Vorabende 0,5 ccm Serum III mit 0,6 ccm Vibrionenaufschwemmung und 0,9 ccm NaCl-Lösung versetzt, $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37°, dann über Nacht kalt aufbewahrt und sodann zentrifugiert wurde; die 0,25, 0,1 und 0,01 ccm konzentriertem Serum entsprechenden Mengen wurden verwendet.

- Meerschw. 157 mit Probe 1: 34,6, 30,3°, durch 6 weitere Stunden unter 30°, Tod in der Nacht, zellarm, steril.
- „ 158 mit Probe 2: Nach etwa $\frac{1}{4}$ Stunde reines Bild schwerer anaphylaktischer Krämpfe, stirbt bald darauf, klassischer Befund.
- „ 159 mit Probe 3: 34,1, 31,4, 30,8°, durch 4 Stunden unter 30°, Tod nach 10 Stunden, fast zellfrei, steril.
- „ 160 mit Probe 4: Nach etwa 35 Minuten setzt das reine Bild des anaphylaktischen Anfalls ein, dem das Tier bald darauf mit klassischem Befunde erliegt.
- „ 161 mit Probe 5, 162 mit Probe 6 und 163 mit Probe 7 zeigen zwischen 15 bis 35 Minuten den anaphylaktischen Anfall, dem sie kurz darauf mit klassischem Eröffnungsbefunde unterliegen.

- Meerschw. 164** mit Probe 8: 35,0, 30,5, unter 30°, Tod nach 8 $\frac{1}{2}$ Stunden, fast zellfrei, steril.
- „ **165** mit Probe 9: 34,1, 31,8, 30,9, 32,4, 32,5°, nach schwerer Krankheit überlebt.
- „ **166** mit Probe 10: 37,6, 37,0, 38,7, 38,7, 38,5°, überlebt.
- „ **167** mit Probe 11: 33,0, unter 30°, Tod nach 8 Stunden, fast zellfrei, steril.
- „ **168** mit Probe 12: 32,8, unter 30°, Tod nach 7 Stunden, fast zellfrei, steril.
- „ **169** mit Probe 13: 35,5, 33,3, 33,1, 33,2, 33,0°, Tod nach 28 Stunden, mäßig viel Zellen, steril.
- „ **170** mit Probe 14: 35,7, 32,6, 30,8, unter 30°, Tod nach 8 Stunden, fast zellfrei, steril.
- „ **171** mit Probe 15: 33,5, 31,6°, Tod nach 9 Stunden, zellfrei, steril.
- „ **172** mit Probe 16: 30,0, 30,7, unter 30°, Tod nach 9 $\frac{1}{2}$ Stunden, zellfrei, steril.

Bei den beiden Tieren 171 und 172 waren nach etwa 1 Stunde gewisse Zeichen von Anaphylaxie (Unruhe, Nasenkratzen, keine Krämpfe) wahrzunehmen.

Der Versuch sollte der Untersuchung der Frage dienen, ob die sehr geringe antitoxische Wirkung, die dem Serum III an sich zukommt, durch Zusatz von Leukocyten verbessert werden könnte. Uebrigens sollte dabei der Einfluß einer vorhergehenden Behandlung des Serums mit Vibrionen studiert werden. Es läßt sich erkennen, daß die verwendeten Zellmengen an sich bis zu 0,05 g die Tiere 171 und 172 nicht zu schützen vermochten. Der Zusatz von 0,01 ccm von Serum III, behandelt oder nicht, ergänzt diese Zellmengen auch nicht. Hingegen werden 0,05 g Zellen mit 0,1 ccm Serum III wirksam, wobei das behandelte Serum noch besser als das unveränderte gewirkt hat. Im übrigen aber ist der Versuch durch den unter Anaphylaxieerscheinungen erfolgten Tod von 5 von 16 Tieren aufs empfindlichste gestört. Das wiederholte sich bereits am nächsten Tage.

Meerschw. 173 gibt 0,75 g schöne, blutfreie Leukocyten. Das für diesen Versuch benutzte, behandelte Serum ist so gewonnen, daß 0,5 ccm Serum III mit 0,5 ccm Vibrionenaufschwemmung ($\frac{1}{2}$ Kultur) versetzt und über Nacht kalt gehalten, dann zentrifugiert wurden.

- 1) 0,05 ccm Serum III (in 0,2 ccm) + 0,05 g Zellen + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,3 ccm Vibrionenaufschwemmung.
- 2) 0,05 ccm Serum III (in 0,2 ccm) + 0,1 g Zellen + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,3 ccm Vibrionenaufschwemmung.
- 3) 0,05 ccm Serum III behandelt + 0,05 g Zellen + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,3 ccm Vibrionenaufschwemmung.

- 4) 0,05 ccm Serum III behandelt + 0,1 g Zellen + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,3 ccm Vibrionenaufschwemmung.
- 5) 0,1 ccm Serum III (in 0,2 ccm) + 0,05 g Zellen + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,3 ccm Vibrionenaufschwemmung.
- 6) 0,1 ccm Serum III (in 0,2 ccm) + 0,1 g Zellen + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,3 ccm Vibrionenaufschwemmung.
- 7) 0,1 ccm Serum III behandelt + 0,05 g Zellen + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,3 ccm Vibrionenaufschwemmung.
- 8) 0,1 ccm Serum III behandelt + 0,1 g Zellen + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,3 ccm Vibrionenaufschwemmung.
- 9) 0,1 ccm Serum III (in 0,2 ccm) + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,3 ccm Vibrionenaufschwemmung.
- 10) 0,1 ccm Serum III behandelt + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,3 ccm Vibrionenaufschwemmung.
- 11) 0,1 ccm Normalschafserum + 0,05 g Zellen + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,3 ccm Vibrionenaufschwemmung.
- 12) 0,1 ccm Normalschafserum + 0,1 g Zellen + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,3 ccm Vibrionenaufschwemmung.

Nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Aufenthalte im Wasserbade von 37° werden die Proben eingespritzt.

- Meersch. 174 mit Probe 1: 38,7, 35,3, 33,5, 32,0°, Tod in der Nacht, wenig Zellen, steril.
- „ 175 mit Probe 2: Tod innerhalb 1 Stunde an reiner Anaphylaxie mit Befund.
- „ 176 mit Probe 3: 38,5, 35,2, 30,8, 30,3°, Tod nach 9 Stunden; fäkulenter Inhalt der Bauchhöhle, Sekundärinfektion, offenbar Darm verletzt.
- „ 177 mit Probe 4: 38,6, 37,4, 36,8, 36,5, 39,0°, überlebt.
- „ 178 mit Probe 5: 38,8, 36,8, 35,7, 37,5, 38,7°, überlebt.
- „ 179 mit Probe 6: 37,7, 37,2, 36,5, 38,0, 39,2°, überlebt.
- „ 180 und 181 mit den Proben 7 und 8 sterben innerhalb 1 Stunde an reiner Anaphylaxie mit bezeichnendem Eröffnungsbefunde.
- „ 182 mit Probe 9: 39,2, 33,2, durch 2 Messungen unter 30°, Tod nach 10 Stunden, zellfrei, steril.
- „ 183 mit Probe 10: 37,2, 31,1°, Tod nach 7 Stunden, fast zellfrei, steril.
- „ 184 mit Probe 11: 33,7, 31,0°, Tod nach 7 Stunden, fast zellfrei, steril.
- „ 185 mit Probe 12: 37,4, 33,3, 30,2°, Tod nach 8 Stunden, fast zellfrei, steril.

Gegen die Menge von fast $\frac{1}{8}$ Kultur vermochten 0,05 und 0,1 g Zellen diesmal nicht zu schützen, sie waren aber dazu in Verbindung mit 0,1 ccm unbehandelten und teilweise auch mit 0,05 ccm behandelten Serums imstande. Man kann daraus bereits schließen, daß die Bakterienbehandlung das Zusammenwirken mit Zellen jedenfalls nur wenig schädigt, so wie dies schon von der Wirkung des Serums III gegen

das Lösungsgift des *Vibrio* bekannt ist. Im übrigen hat auch hier die zwischentretende Anaphylatoxinwirkung den Versuchsausfall beeinträchtigt.

Meerschw. 196 gibt 0,6 g Leukocyten. Für den Versuch werden folgende Proben vibrionenbehandelten Serums hergestellt:

- a) 0,2 ccm Serum III + 0,5 ccm Vibrionenaufschwemmung + 0,3 ccm NaCl-Lösung.
- b) 0,2 ccm Serum III + 0,5 ccm Vibrionenaufschwemmung + 0,08 g Leukocyten in 0,3 ccm NaCl-Lösung.
- c) 0,2 ccm Serum III + 0,8 ccm NaCl-Lösung.

Alle Proben wurden nach $\frac{1}{2}$ -ständigem Aufenthalte bei 37° klar zentrifugiert.

- 1) 0,075 g Zellen + 0,5 ccm Serum a + 0,005 ccm Wiener Immunserum + 0,25 ccm Aufschwemmung.
- 2) 0,075 g Zellen + 0,5 ccm Serum b + 0,005 ccm Wiener Immunserum + 0,25 ccm Aufschwemmung.
- 3) 0,075 g Zellen + 0,5 ccm Serum c + 0,005 ccm Wiener Immunserum + 0,25 ccm Aufschwemmung.
- 4) 0,075 g Zellen + 0,1 ccm Normalschafserum in 0,5 ccm NaCl + 0,005 ccm Wiener Immunserum + 0,25 ccm Aufschwemmung.

Nach $\frac{1}{2}$ -ständigem Aufenthalte bei 37° eingespritzt.

Meerschw. 197 mit Probe 1: 38,3, 35,4, 33,0 35,0, 37,8°, überlebt.

„ 198 mit Probe 2: stirbt nach etwa 25 Minuten rein anaphylaktisch.

„ 199 mit Probe 3: 38,5, 36,5, 33,0, 33,1, 34,7°, überlebt, stirbt nach 2 Tagen mit einer Stäbcheninfektion.

„ 200 mit Probe 4: 34,8, 32,0, unter 30°, unter 30°, Tod nach 8 $\frac{1}{2}$ Stunden, zellarm, steril.

Im zweiten Teile des Versuches wurde die Wirkung von Zellen mit Serum III und Normalschafserum auf Vibrionen untersucht, die in größerer Menge von je 0,45 ccm der gewöhnlich angewendeten Aufschwemmung mit je 0,04 ccm Wiener Immunserum $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° behandelt, dann abzentrifugiert und gewaschen wurden.

- 1) 0,075 g Zellen + 0,1 ccm Serum III + 0,45 ccm sensibilisierte Aufschwemmung.
- 2) 0,025 g Zellen + 0,1 ccm Serum III + 0,45 ccm sensibilisierte Aufschwemmung.
- 3) 0,075 g Zellen + 0,1 ccm Normalschafserum + 0,45 ccm sensibilisierte Aufschwemmung.
- 4) 0,025 g Zellen + 0,1 ccm Normalschafserum + 0,45 ccm sensibilisierte Aufschwemmung.

Nach $\frac{1}{2}$ -ständigem Verweilen bei 37° eingespritzt.

Meerschw. 201 mit Probe 1: 38,4, 33,5, 31,2, 31,2, 33,8, schwer krank, erholt, überlebt.

„ 202 mit Probe 2: 33,6, 31,8, unter 30°, Tod nach 7 $\frac{1}{2}$ Stunden, zellarm, steril.

Meerschw. 203 mit Probe 3: 33,5, 32,4, unter 30°, unter 30°, 33,6°, Tod nach 29 Stunden, eitrig, steril; das Tier hatte $\frac{1}{2}$ Stunde nach der Einspritzung leichte, aber unverkennbare Zeichen von Anaphylaxie gezeigt.

„ **204** mit Probe 4: 36,4, 32,7, 30,7, unter 30°, Tod nach 9 Stunden, zellarm, steril.

In seinem ersten Teile, der allerdings durch den anaphylaktischen Tod eines Tieres empfindlich gestört ist, beweist der Versuch neuerlich, daß Bakterienbehandlung die Wirkung des Serums III kaum beeinträchtigt. Wichtiger ist der zweite Teil, der beweist, daß bei Verwendung von mit bakterizidem Serum sensibilisierten und durch Waschung gereinigten Vibrionen eine irgend deutliche Begünstigung der Zellwirkung auf die Entgiftung nicht mehr hervortritt. Daraus läßt sich schließen, daß die so auffällige Wirkung des Serums III nicht auf einer unmittelbaren Beeinflussung des in sensibilisierten Vibrionen ja unverändert enthaltenen Leibesgiftes beruht, sondern daß sie in einem Nebenumstande begründet ist. Dieser ließ sich erst später auffinden. Vorher möge aber der in diesen Versuchsreihen so auffälligen Anaphylaxieerscheinungen bei zahlreichen Tieren Erwähnung geschehen. Wie bereits bemerkt, ist für diese, in schönster Ausbildung von Krankheit wie Todesbefund ausgeprägten Shockwirkungen keine andere Erklärung als die durch Bildung von Anaphylatoxin möglich. Ihre Bedeutung liegt nicht so sehr darin, daß sich zu den vielen Fällen, in denen bisher die Bildung anaphylaktischer Gifte nachgewiesen wurde, ein neuer gesellt, als vielmehr darin, daß die Anaphylatoxinbildung unter Umständen erfolgte, die denen eines gewöhnlichen Infektionsversuches mit Halbparasiten entsprechen. Die Anschauungen Friedbergers über den möglichen Zusammenhang von Anaphylatoxin mit Infektionskrankheit sind bereits eingangs gewürdigt worden. Ihnen ist sicher bis zu einem gewissen Grade der Umstand nicht förderlich gewesen, daß die Herstellung des Anaphylatoxins sowohl, wie die Prüfung der Wirkung desselben im Tierversuche (insbesondere die intravenöse Einspritzung) auf eine scheinbar unnatürliche Weise erfolgte, und daß man ohne diese bei den zahllosen Laboratoriumsversuchen mit Infektionserregern von Anaphylaxieshock so wenig bemerkte. Diese Bedenken fallen für die angeführten

Versuche, bei deren Anstellung übrigens an alles andere eher als an Erzeugung von Anaphylaxie gedacht war, vollständig weg. Sie entsprechen in ihrer Anordnung durchaus den Versuchen, wie sie für die Bestimmung und Untersuchung von Bakterienleibesgiften üblich sind, die Erscheinungen bedurften nicht der Einspritzung des Systems in die Blutbahn, sondern traten nach einer solchen in die Bauchhöhle auf. Dabei ist bezeichnend, daß die Frist, die von der Einspritzung bis zu den ersten Anzeichen verlief, eine ungleich längere war, als sie für die intravenöse Anwendung anaphylatoxischer Flüssigkeiten angegeben wird, ein Kennzeichen, das auch für die zuerst genauer studierte Anaphylaxie gegen Pferdeserum bei Meerschweinchen und intraperitonealer Einspritzung erhoben wurde.

Durch diese, im Grunde genommen nur gelegentlichen Beobachtungen erscheint die Friedbergersche Anschauung von der Bedeutung der Anaphylatoxinbildung bei Infektionskrankheiten (nicht Infektionen, für welche ja allein das Moment der Möglichkeit des Wachstums der Bakterien im Tierkörper, ohne Rücksicht auf die etwa entstehende Krankheit, entscheidend ist) weit über den Rahmen einer bloßen, geistreichen Vermutung hinausgehoben. Es gibt tatsächlich Fälle, wo anstatt des gewöhnlichen Bildes der Vergiftung mit Bakterienleibersstoffen die anaphylaktischen Erscheinungen derart in den Vordergrund treten, daß man unwillkürlich zu der Vermutung gelangt, sie seien in letzter Linie nichts anderes als der höchste Grad der endotoxischen Vergiftung, stünden mindestens mit ihr in einem sehr innigen Zusammenhange.

Damit scheint übereinzustimmen, daß die Endotoxinwirkungen bei verschiedenen Bakterien zwar quantitativ, aber nicht qualitativ verschieden sind. Es gibt keine Eigentümlichkeit, welche gestatten würde, das Krankheitsbild eines intraperitoneal mit Cholera geimpften Meerschweinchens von dem eines mit *Bacterium coli* oder Staphylokokken behandelten zu unterscheiden, und auch das Bild der Vergiftung mit z. B. Rinderserum wird schwerlich jemand davon durch den bloßen klinischen Beobachtungsbefund trennen können. Gleichheit der sich entwickelnden Krankheitssymptome bei größter Ungleichheit des sie verursachenden Materials ist ebenso der Endotoxinvergiftung wie der Anaphylaxie eigentümlich.

Was die Entstehung des anaphylaktischen Shocks im gegebenen Falle betrifft, so ist für seine Ausbildung die Anwendung des antitoxischen Serums III offenbar von Vorteil. Nie traten sonst derart gehäufte Vorkommnisse ein; aber unbedingt erforderlich ist dasselbe dafür ebensowenig, wie etwa der Zusatz aktiven Serums oder eines sonstigen Bestandteiles der gerade in Versuch genommenen Systeme, zu denen bakterizides Immunserum stets gehörte. Hingegen ist die Menge der Vibrionen sicher bedeutungsvoll; unter etwa $\frac{1}{4}$ Kultur trat nie ein Symptom von Anaphylatoxinbildung ein, darüber hinaus um so öfter, je mehr diese Gabe überschritten wurde.

Es wird noch viel zu tun übrigbleiben, ehe diese, sowohl für die Endotoxin- als für die Anaphylaxiefrage wichtigen Versuche vollständig auszudeuten sein werden: vorläufig sollte nur auf den von Friedberger vorhergesagten, jetzt dem unmittelbaren Nachweise näher gebrachten Zusammenhang beider nachdrücklich hingewiesen werden. Nur kurz sei erwähnt, daß Friedberger und Nathan (diese Zeitschr., Bd. 9, p. 444) bereits die Bildung von Anaphylatoxin im Meerschweinchen beobachteten, aber nur durch Einspritzen des nach einiger Zeit unter verschiedenen Bedingungen verschieden rasch gebildeten Giftes in die Blutwege anderer Tiere nachzuweisen vermochten. Die das Gift selbst bildenden Tiere erkrankten nicht anaphylatoxisch; in den hier mitgeteilten Versuchen bildete sich nicht nur in der Bauchhöhle das Gift aus, sondern es wirkte auch von ihr aus tödlich¹⁾.

Vor Mitteilung der weiteren Versuche über die Wirkungsweise des antitoxischen wie auch die des bakteriziden Immunserums für die Vibrionenentgiftung seien noch einige Nebenergebnisse angeführt.

So ließ sich feststellen, daß auch das Kaninchenserum im aktiven Zustande an sich entgiftet, und zwar ungefähr in gleichen Mengen wie Meerschweinchenserum, das es auch im Versuche mit Leukocyten zu ersetzen vermag.

Weiter sollte festgestellt werden, ob bei der Einwirkung von Vibrionen und Zellen eine wirkliche Entgiftung erfolgt.

1) Bei subkutaner Zufuhr von Anaphylatoxin beobachtete Friedberger die Ausbildung von Nekrosen.

War dies der Fall, so mußte eine Vibrionenmenge, durch die entsprechende Zellmenge entgiftet, in beliebiger Vervielfachung für Meerschweinchen unschädlich sein.

Die von Meerschw. 252 erhaltenen 0,7 g Leukocyten wurden zu je 0,1 g mit je 0,01 ccm Wiener Immunserum und 0,25 ccm Vibrionen (= $\frac{1}{4}$ Kultur) $\frac{1}{4}$ Stunde bei 37° gehalten. Hierauf wurde die Probe I für sich eingespritzt, zur Probe II wurden 2, zur Probe III 4 der erwähnten Portionen vereint und durch NaCl-Lösung auf gleiche Menge gebracht. Es kam daher die $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$ und 1 Kultur entsprechende Menge von Vibrionen zur Anwendung.

Meerschw. 253 mit Probe I: 38,5, 37,8, 37,6, 38,4, 38,7°, überlebt.

„ 254 mit Probe II: 38,6, 37,4, 37,4, 37,4, 38,3°, überlebt.

„ 255 mit Probe III: 38,7, 36,8, 36,8, 37,6, 38,6°, überlebt.

Ein Kontrolltier 258 mit Immunserum und 0,25 ccm Vibrionen allein zeigte: 34,2, 30,6°, durch 2 Messungen unter 30°, Tod nach etwa 9 bis 10 Stunden, zellarm, steril.

Es hat somit die Menge von einer ganzen Vibrionenzucht nach Zellbehandlung nicht einmal mehr eine Wärmesenkung hervorrufen können, womit ein Mittel gefunden ist, Tieren geradezu riesige Mengen der giftigen Bakterien schadlos einzuverleiben.

Behandlung von Leukocyten mit Lösungsgift hebt, wie schon früher beschrieben wurde, die gegen dieses Gift gerichtete Wirkung derselben auf; das gilt auch für die Beseitigung des in den Bakterien enthaltenen Leibesgiftes, und eine Ergänzung durch aktives Meerschweinchenserum in kleinen Mengen war nicht möglich.

Der Versuch wurde mit den Zellen von Meerschw. 225 im Zusammenhang mit dem bereits oben angeführten Versuche mit den Meerschw. 226 bis 231 angestellt.

- 1) 0,1 g Zellen + 2 ccm Toxin $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, mit viel NaCl-Lösung gewaschen, Satz in 1,5 ccm NaCl + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,25 ccm Vibrionen + 0,3 ccm Meerschw.-Serum inaktiv ($\frac{1}{4}$ Stunde 56°).
- 2) Wie Probe 1, aber mit 0,3 ccm Meerschw.-Serum aktiv.

Meerschw. 232 mit Probe 1: 33,7, 30,2, unter 30°, Tod nach 8 Stunden, fast zellfrei, steril.

„ 233 mit Probe 2: 34,3, 31,8, 30,6, unter 30°, Tod nach etwa 9 Stunden, zellarm, steril.

Das antitoxische Serum III vermag diese Wirkung des Giftes mehr minder vollständig aufzuheben.

Zellen von Meerschw. 287. Mit einem in gewöhnlicher Weise durch Ausziehen von großen Vibrionenmengen bei 42° gewonnenen Lösungsgifte wurden folgende Proben angesetzt und $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° gehalten:

- a) 2 ccm Gift + 0,2 ccm Normalschafserum.
- b) 2 ccm Gift + 0,2 ccm Serum III.
- c) 2 ccm NaCl-Lösung + 0,2 ccm Serum III.

Danach wurde den 3 Proben a—c je 0,1 g Leukocyten (in je 0,3 ccm NaCl-Lösung) zugesetzt, und nach $\frac{1}{4}$ -stündiger Einwirkung wurden die Zellen unter Zusatz von viel Kochsalzlösung ausgeschleudert.

- 1) Zellen von a in 0,3 ccm NaCl-Lösung + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,25 ccm Vibrionen.
- 2) Zellen von b in 0,3 ccm NaCl-Lösung + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,25 ccm Vibrionen.
- 3) Zellen von c in 0,3 ccm NaCl-Lösung + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 0,25 ccm Vibrionen.

Nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Aufenthalte bei 37° wurden alle Proben eingespritzt.

Meerschw. 295 mit Probe 1: 37,7, 33,7, 32,1, unter 30°, Tod nach 10 Stunden, fast zellfrei, steril.

„ 296 mit Probe 2: 37,7, 34,5, 34,2, 34,4, 34,2°, überlebt, war nicht besonders krank.

„ 297 mit Probe 3: 38,7, 37,7, 38,3, 39,3, 39,5°, überlebt, ohne Krankheit.

Die Zellen, welche an sich bei Meerschw. 297 vollständig entgiftet hatten, waren bei Meerschw. 295 nach vorheriger Giftbehandlung vollkommen wirkungslos geworden. Diesen schädlichen Einfluß des Giftes hatte aber das antitoxische Serum III so gut beseitigt, daß nur noch an der Wärmemessung die übriggebliebene Schädigung, welche das Giftbeseitigungsvermögen der Zellen trotzdem erfahren hat, zu erkennen ist.

Dieser Befund mußte bereits den Gedanken aufkommen lassen, daß die Giftabgabe der Vibrionen von großer Bedeutung für das Zustandekommen der Vibrionenvergiftung sein muß. Denn abgesehen von der Zellabhaltung, welche das Gift im Tierkörper (Bauchhöhle) bewirkt, müssen auch die dennoch einwandernden Leukocyten an der Entfaltung ihrer auf das Leibesgift gerichteten Entgiftung gehindert sein, sobald Lösungsgift zur Abscheidung und Wirkung kommt. Eine an sich Vibrionensubstanz beseitigende Zellmenge muß unzureichend werden, sobald ihr Lösungsgift zugesetzt wird.

Dadurch erklärten sich sogleich Ergebnisse, welche bei Einführung einer neuen Versuchsanordnung auftraten. Bisher

war fast immer die Entgiftung außerhalb des Tierkörpers so bewerkstelligt worden, daß Vibrionen, Zellen und bakterizides Immunserum gleichzeitig aufeinander einwirken konnten. Dem letzteren wurde dabei lediglich die Rolle einer Verhinderung der späteren Vermehrung der Vibrionen im Tierkörper zugeschrieben. Den ersten Verdacht, daß die Verhältnisse doch mehr verwickelt sein könnten, erweckte der folgende Versuch.

Zellen von Meersch. 216. Es wurden angesetzt:

- 1) 0,1 g Zellen in 1,5 ccm NaCl + 0,3 ccm Meersch.-Serum inaktiv + 0,2 ccm Vibrionen.
- 2) 0,1 g Zellen in 1,5 ccm NaCl + 0,3 ccm Meersch.-Serum aktiv + 0,2 ccm Vibrionen.
- 3) 0,1 g Zellen in 1,5 ccm NaCl + 0,3 ccm Meersch.-Serum inaktiv + 0,4 ccm Vibrionen.
- 4) 0,1 g Zellen in 1,5 ccm NaCl + 0,3 ccm Meersch.-Serum aktiv + 0,4 ccm Vibrionen.
- 5) 0,1 g Zellen in 1,5 ccm NaCl + 0,3 ccm Meersch.-Serum inaktiv + 0,6 ccm Vibrionen.
- 6) 0,1 g Zellen in 1,5 ccm NaCl + 0,3 ccm Meersch.-Serum aktiv + 0,6 ccm Vibrionen.
- 7) Keine Zellen in 1,5 ccm NaCl + 0,3 ccm Meersch.-Serum aktiv + 0,2 ccm Vibrionen.

Die Vibrionenaufschwemmung (wie immer 1 Agarzucht in 1 ccm NaCl-Lösung) enthielt auf je 1 ccm 0,025 ccm Serum III. Nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Aufenthalte der Proben bei 37° wurde zu den Proben 1 und 2 je 0,01, zu 3 und 4 je 0,02, zu 5 und 6 je 0,03 ccm bakterizides Wiener Immunserum zugesetzt, zu Probe 7 0,01 ccm.

Meersch. 217 mit Probe 1: 37,8, 35,6, 33,8, 34,1, 35,8°, Tod in der Nacht nach mehr als 12 Stunden.

„ 218 mit Probe 2: 30,7, 36,1, 35,4, 35,3, 38,0°, überlebt.

„ 219 mit Probe 3: 37,7, 34,5, 31,6, 30,3, unter 30°, Tod nach 11 Stunden, fast zellfrei, steril.

„ 220 mit Probe 4: 35,0, 35,2, 30,8, 30,9, 32,6°, Tod nach 12 Stunden, mäßig Zellen, steril.

„ 221 mit Probe 5: stirbt bald mit dem regelrechten Befunde der Anaphylaxie.

„ 222 mit Probe 6: 32,4, 32,1, unter 30°, Tod nach 8 Stunden, zellfrei, steril.

„ 223 mit Probe 7: 36,7, 34,7, 31,5, 32,2, 33,0°, Tod nach 12 Stunden, mäßig zellhaltig, steril.

Im Versuche sollte die bereits von früher her bekannte Erhöhung der entgiftenden Zellwirkung bei Zusatz aktiven Serums studiert werden. Der Ausfall des Versuches entsprach aber durchaus nicht den berechtigten Erwartungen, da die Zellen eben nur, und auch dann nur mit aktivem Serum,

zusammen, die eben knappst tödliche Menge von Vibrionen zu entgiften vermochten. Auf die bei Meerschw. 221 aufgetretene Anaphylaxie, die in nicht tödlicher, aber an der Wärmemessung kenntlicher Form auch bei Meerschw. 218 beobachtet wurde, sei nur hingewiesen.

Der einzige Unterschied in der Versuchsanordnung gegen früher bestand nur darin, daß das bakterizide Immunserum diesmal nicht gleichzeitig mit den Zellen auf die Vibrionen einwirken konnte. Von welcher Wichtigkeit aber gerade dieser Umstand ist, wurde bald durch eigene Versuche klargelegt.

Zum Versuche wurden ausnahmsweise Tiere von etwa 300 g verwendet, von denen Meerschw. 351 und 352 zunächst je 0,015 ccm Wiener Immunserums in je 1 ccm NaCl-Lösung intraperitoneal erhielten; dann

Meerschw. 351: 0,1 g Zellen + 0,25 ccm Vibrionen nach $\frac{1}{2}$ -stündiger Einwirkung bei 37°: 38,2, 33,8, unter 30°, 33,0, 33,8°, überlebt nach anscheinend hoffnungsloser Erkrankung.

„ 352: nur 0,25 ccm Vibrionen: 36,0, 33,8, 31,5, 32,0, 32,5°, Tod nach 22 Stunden mit vielen Zellen, steril.

Die beiden anderen Tiere erhielten:

Meerschw. 353 (0,1 g Zellen + 0,25 ccm Vibrionen + 0,01 ccm Wiener Immunserum) $\frac{1}{2}$ Stunde 37°: 39,7, 39,4, 38,5, 39,6, 40,0°, ohne jede Krankheit.

„ 354 (0,25 ccm Vibrionen + 0,01 ccm Wiener Immunserum) $\frac{1}{2}$ Stunde 37°: 38,5, 36,2, 34,1, 36,2, 37,0°, war deutlich krank, überlebte aber.

Es ist offenbar nur der Größe der Versuchstiere im Verhältnis zu der geringen Vibrionenmenge zuzuschreiben, daß Meerschw. 351 und 354 überlebten; die Krankheit beider ließ aber keinen Zweifel darüber zu, daß eine Entgiftung der Vibrionen nicht eingetreten war, welche bei Meerschw. 353, das auch keine Spur von Wärmesenkung, sondern nur Fieber zeigte, sich zur Gänze vollzogen hatte.

Es werden angesetzt:

- 1) 0,35 ccm Vibrionen + 0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 0,35 ccm NaCl, und 1 a) 0,012 ccm Wiener Immunserum in 1 ccm NaCl.
- 2) 0,35 ccm Vibrionen + 0,012 ccm Wiener Immunserum + 0,65 ccm NaCl, und 2 a) 0,1 g Zellen in 1 ccm NaCl.
- 3) 0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 0,012 ccm Wiener Immunserum + 0,6 NaCl, und 3 a) 0,35 ccm Vibrionen in 1 ccm NaCl.
- 4) 0,35 ccm Vibrionen + 0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 0,012 ccm Wiener Immunserum + 0,25 ccm NaCl, und 4 a) 1 ccm NaCl.
- 5) 0,35 ccm Vibrionen + 0,012 ccm Wiener Immunserum + 0,65 ccm NaCl, und 5 a) 1 ccm NaCl.

Alle Proben bleiben $\frac{1}{2}$ Stunde im Wasserbade bei 37° , dann wird unmittelbar vor der Einspritzung so gemischt, daß z. B. erst die Probe 1 in die Spritze aufgesaugt, dann 1a nachgesaugt wird; ebenso bei den Proben 2 und 2a usf.

Meerschw. 355 mit Probe 1, 1a: 34,7, 34,0, unter 30° , unter 30° , Tod nach $9\frac{1}{2}$ Stunden. zellarm, steril.
 „ 356 mit Probe 2, 2a: 35,9, 37,2, 35,8, 36,5, 37,6, $38,0^{\circ}$, überlebt.
 „ 357 mit Probe 3, 3a: 35,2, 37,1, 36,7, 38,3, 39,3. $40,0^{\circ}$, überlebt.
 „ 358 mit Probe 4, 4a: 36,0, 36,8, 35,4, 35,6, 37,0, $38,4^{\circ}$, überlebt.
 „ 359 mit Probe 5, 5a: 34,4, 32,5, 30,7, unter 30° , Tod nach 9 Stunden, zellarm, steril.

Der Versuch, bei dem alle Tiere die gleichen Mengen aller Bestandteile erhielten, nur daß diese außerhalb des Tierkörpers erst verschieden aufeinander einwirken konnten, beansprucht viel Interesse. Die gleichen Zellen, welche bei Anwesenheit von bakterizidem Immunserum Vibrionen für Meerschw. 357 vollständig entgiftet hatten, waren bei Meerschw. 355 vollkommen wirkungslos, wenn Vibrionen auf sie ohne bakterizides Immunserum eingewirkt hatten. Der nachträgliche Zusatz von solchen war ohne Bedeutung. Die mikroskopische Untersuchung von Proben aus der Bauchhöhle zeigte dabei, daß bei allen Tieren nach $\frac{1}{2}$ Stunde nur noch vereinzelte Granula übrig waren, nach 2 Stunden überhaupt nichts mehr. Meerschw. 356 zeigt, daß mit Immunserum vorbehandelte Vibrionen glatt entgiftet werden, auch ohne daß eine längere Einwirkung der Zellen außerhalb des Tierkörpers erforderlich ist, und Meerschw. 357, daß eine Mischung von Zellen und bakterizidem Immunserum Vibrionen, auf welche sie außerhalb des Tieres nicht einwirken kann, in diesem noch recht gut zu entgiften vermag. Es ist kein anderer Schluß möglich als der, daß Vibrionen aktiv die entgiftende Fähigkeit der Leukocyten zu zerstören vermögen, daß aber bakterizides Immunserum diese antileukocytäre Wirkung in irgend einer Weise verhindert.

Es werden angelegt:

- 1) 0,35 ccm Vibrionen + 0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 0,35 ccm NaCl und 1a) 0,012 Wiener Immunserum + 0,9 ccm NaCl.
- 2) 0,012 ccm Wiener Immunserum + 0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 0,6 ccm NaCl und 2a) 0,35 ccm Vibrionen + 0,65 ccm NaCl.
- 3) 0,012 ccm Wiener Immunserum + 0,9 ccm NaCl und 3a) 0,35 ccm Vibrionen + 0,65 ccm NaCl.

- 4) 0,35 ccm Vibrionen + 0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 0,35 ccm NaCl und 4a) 0,012 ccm Wiener Immunserum + 0,9 ccm NaCl.
- 5) 0,012 ccm Wiener Immunserum + 0,1 g Zellen + 0,6 ccm NaCl und 5a) 0,35 ccm Vibrionen + 0,65 ccm NaCl.

Alle Proben bleiben $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37°, dann werden die Proben 4 und 5 mit 4a und 5a gemischt und bleiben weiter $\frac{1}{4}$ Stunde bei 37° bis zur Einspritzung. Die Proben 1–3 werden erst unmittelbar vor der Einspritzung mit 1a–3a gemischt.

- Meerschw. 360 mit Probe 1, 1a: 36,5, 35,5, 30,7, 31,3, 30,2, unter 30°, Tod nach mehr als 12 Stunden, wenig Zellen, steril.
- „ 361 mit Probe 2, 2a: 36,4, 37,1, 34,8, 37,5, 39,5°, überlebt.
- „ 362 mit Probe 3, 3a: 36,4, 31,2, 30,1, dann immer unter 30°, Tod nach etwa 12 Stunden, ziemlich viel Zellen, steril.
- „ 363 mit Probe 4, 4a: 35,3, 35,3, 30,6, 31,8, 33,2, 35,3°, nach Krankheit erholt.
- „ 364 mit Probe 5, 5a: 37,7, 37,7, 36,4, 38,1, 39,3, 39,5°, überlebt.

Der Versuch bestätigt klar den vorigen und erweitert ihn noch: wenn einmal Vibrionen auf Zellen bei 37° eingewirkt haben, so sind sie auch nach Zusatz von bakterizidem Immunserum, welches nach der mikroskopischen Beobachtung innerhalb $\frac{1}{2}$ Stunde vollkommene Bakteriolyse herbeiführte, nicht nur dann für Entgiftung unwirksam geworden, wenn die Mischung nach Zusatz des Immunserums sofort eingespritzt wird (Meerschw. 360 gegen 361), sondern auch dann, wenn man dem Immunserum nun nachträglich Gelegenheit gibt, sich an die Vibrionen anzulagern; die schwere Krankheit von Meerschw. 363 im Vergleich zu Meerschw. 364 beweist, daß die entgiftende Zellwirkung unwiederbringlich verloren ist.

Von Bedeutung erwies sich der Zusatz von Meerschweinchenserum.

- 1) 0,1 g Zellen + 0,3 ccm Vibrionen + 1,5 ccm NaCl und 1a) 0,01 ccm Wiener Immunserum + 1,5 ccm NaCl.
- 2) 0,1 g Zellen + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 1,5 ccm NaCl und 2a) 0,3 ccm Vibrionen + 1,5 ccm NaCl.
- 3) 0,1 g Zellen + 0,3 ccm Vibrionen + 1,5 ccm NaCl und 3a) 0,01 ccm Wiener Immunserum + 1,5 ccm aktives Meerschw.-Serum.
- 4) 0,1 g Zellen + 0,3 ccm Vibrionen + 1,5 ccm aktives Meerschw.-Serum und 4a) 0,01 ccm Wiener Immunserum + 1,5 ccm NaCl.
- 5) 0,1 g Zellen + 0,01 ccm Wiener Immunserum + 1,5 ccm NaCl und 5a) 0,3 ccm Vibrionen + 1,5 ccm aktives Meerschw.-Serum.
- 6) 0,3 ccm NaCl + 0,3 ccm Vibrionen + 1,5 ccm aktives Meerschw.-Serum und 6a) 0,01 ccm Wiener Immunserum + 1,5 ccm NaCl.
- 7) 0,3 ccm NaCl + 0,3 ccm Vibrionen + 1,5 ccm NaCl und 7a) 0,01 ccm Wiener Immunserum + 1,5 ccm aktives Meerschw.-Serum.
- 8) 0,3 ccm NaCl + 0,3 ccm Vibrionen + 1,5 ccm NaCl und 8a) 0,01 ccm Wiener Immunserum + 1,5 ccm NaCl.

Die Proben blieben gesondert $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° und wurden unmittelbar vor der Einspritzung gemischt.

- Meerschw. 373 mit Probe 1, 1a: 35,7, 34,5, immer unter 30° , Tod nach $8\frac{1}{2}$ Stunden, fast zellfrei, steril.
- „ 374 mit Probe 2, 2a: 35,8, 35,5, 32,2, 34,7, 36,4, $37,0^{\circ}$, vorübergehend krank.
- „ 375 mit Probe 3, 3a: 35,5, 35,2, 32,4, 32,5, 32,5, $33,4^{\circ}$, erholte sich etwas, starb in der Nacht des zweiten Tages, viel Zellen, steril.
- „ 376 mit Probe 4, 4a: 39,0, 38,5, 36,5, 38,2, 36,0, $37,6^{\circ}$, ohne Krankheit.
- „ 377 mit Probe 5, 5a: 38,0, 37,8, 35,7, 38,0, 38,2, $38,7^{\circ}$, ohne Krankheit.
- „ 378 mit Probe 6, 6a: 33,0, 35,8, 31,8, 32,8, 32,8, $33,7^{\circ}$, das Tier hatte bald nach der Einspritzung deutliche Zeichen von Anaphylaxie erkennen lassen, wurde dann schwer krank, erholte sich bei rückbleibender Parese des Hinterkörpers etwas, starb aber nach 34 Stunden mit eitriger, steriler Bauchhöhle.
- „ 379 mit Probe 7, 7a: 39,2, 38,2, 36,2, 38,3, 39,0, $38,5^{\circ}$, ohne Krankheit.
- „ 380 mit Probe 8, 8a: 33,6, 31,0, immer unter 30° , Tod nach 8 Stunden, ohne Zellen, steril.

Bis auf bald vorübergehende Wärmesenkung hatten die Zellen die Vibrionen bei Meerschw. 374 glatt entgiftet, sobald Immunserum zugegen war, das außerhalb des Tieres nur ganz kurz auf sie einwirken konnte; dagegen wurde Meerschw. 373, wo Zellen ohne Immunserum dem Einflusse der Vibrionen ausgesetzt waren, durch die letzteren sofort vergiftet. Wurde aber aktives Meerschweinchenserum zugesetzt, so blieb die schädliche Wirkung der Vibrionen auf die Zellen gänzlich aus (Meerschw. 376); ja selbst dann, wenn dieses Serum nach der Einwirkung von Vibrionen auf Zellen angewendet wurde, konnte der Krankheitsverlauf bei Meerschw. 375 etwas in günstigem Sinne beeinflußt werden. Das Meerschweinchenserum an sich schützte in der angewendeten Menge vollständig gegen Vibrionenvergiftung (Meerschw. 379), erwies sich aber, wenn es mit Vibrionen ohne Immunserum vorher in Berührung gewesen war, als abgeschwächt, ohne daß die Entgiftung in dem Grade wie bei Zellen zerstört gewesen wäre (Meerschw. 378).

Es lag natürlich nahe, die Schutzwirkung, welche das aktive Meerschweinchenserum den Zellen gegen die Vibrionenwirkung gewährt, auf dessen Gehalt an normalen bakterio-

lytischen Immunkörpern zurückzuführen, welche ähnlich wie die künstlichen des Immunserums gewirkt hätten.

- 1) 0,1 g Zellen + 0,012 ccm Wiener Immunserum + 1,5 ccm NaCl und 1a) 0,3 ccm Vibrionen + 1,5 ccm NaCl.
- 2) 0,1 g Zellen + 0,3 ccm Vibrionen + 1,5 ccm NaCl und 2a) 0,012 ccm Wiener Immunserum + 1,5 ccm NaCl.
- 3) 0,1 g Zellen + 0,3 ccm Vibrionen + 1,5 ccm NaCl und 3a) 0,012 ccm Wiener Immunserum + 1,5 ccm aktives Meersch.-Serum.
- 4) 0,1 g Zellen + 0,3 ccm Vibrionen + 1,5 ccm inaktives Meersch.-Serum und 4a) 0,012 ccm Wiener Immunserum + 1,5 ccm NaCl.
- 5) 0,1 g Zellen + 0,3 ccm Vibrionen + 1,5 ccm aktives Meersch.-Serum und 5a) wie 4a.
- 6) 0,3 ccm NaCl + 0,3 ccm Vibrionen + 1,5 aktives Meersch.-Serum und 6a) wie 4a.
- 7) 0,3 ccm NaCl + 0,3 ccm Vibrionen + 1,5 ccm NaCl und 7a) 0,012 ccm Wiener Immunserum + 1,5 ccm aktives Meersch.-Serum.
- 8) 0,3 ccm NaCl + 0,3 ccm Vibrionen + 1,5 ccm NaCl und 8a) 0,12 ccm Wiener Immunserum + 1,5 ccm NaCl.

Die gesondert $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° gehaltenen Proben werden unmittelbar vor der Einspritzung gemischt.

- Meersch. 382** mit Probe 1, 1a: 35,1, 34,7, 33,2 32,8, 31,8, 31,4°, Tod nach etwa 20 Stunden, Bauchhöhle eitrig, steril.
- „ **383** mit Probe 2, 2a: 33,5 unter 30°, Tod nach 6 Stunden, zellfrei, steril.
- „ **384** mit Probe 3, 3a: 38,2, 35,8, 32,1, 31,6, unter 30°, Tod nach 11 Stunden, sehr zellarm, steril.
- „ **385** mit Probe 4, 4a: 36,3, 32,1°, Tod nach etwa 6 Stunden, zellfrei, steril.
- „ **386** mit Probe 5, 5a: 38,6, 37,7, 36,4, 37,2, 38,7, 39,3°, ohne Krankheit.
- „ **387** mit Probe 6, 6a: 35,8, 31,8 30,7, 30,6, unter 30°, Tod in der Nacht, fast ohne Zellen (vgl. den Gegensatz zu dem nur wenig später gestorbenen Meersch. 382 mit eitriger Bauchhöhle), steril.
- „ **388** mit Probe 7, 7a: Anaphylaktischer Tod nach etwa 40 Min.
- „ **389** mit Probe 8, 8a: 35,4, 30,6, durch 4 Stunden unter 30°, Tod nach etwa 10 Stunden, fast zellfrei, steril,

Der Versuch zeigt aufs klarste die Schutzwirkung, welche aktives Meerschweinchenserum auf Zellen, die dem verderblichen Einflusse von lebenden Vibrionen ausgesetzt sind, auszuüben vermag. Dieselbe ist durch inaktives Serum (Meersch. 385) in keiner Weise zu erzielen, kann also nicht schlechtweg auf den normalen Immunkörpergehalt bezogen werden. Dabei ist die Entgiftungswirkung des Serums allein nicht zu erkennen, da das betreffende Versuchstier 388 anaphylaktisch zugrunde ging, die Zellen allein aber vermochten

diesmal keine vollständige Entgiftung bei Meerschw. 382 herbeizuführen. Im übrigen stellte sich bei Weiterführung der Versuche bald heraus, daß die bisher meist geübte Anordnung, wo die gesonderten Proben von z. B. Vibrionen und Zellen nach gegenseitiger Einwirkung bei 37° sofort mit Immunsérum oder dem System, welches dasselbe enthielt, gemischt und eingespritzt wurden, nicht vorteilhaft sei, da unter solchen Umständen Versager vorkamen, gelegentlich selbst keine vollständige Bakteriolyse bei größeren Mengen Kultur zu erzielen war. Es wurde daher nunmehr die bereits durch den Versuch mit den Tieren 360—365 gerechtfertigte Anordnung gewählt, die fertiggestellten Mischungen erst nach einem neuerlichen, meist $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ -ständigen Verweilen bei 37° zum Tierversuche zu verwenden.

- 1) 0,1 g Zellen + 0,3 ccm Vibrionen + 1,5 ccm NaCl, $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37°, dann 0,012 ccm Wiener Immunsérum, zugesetzt, wieder $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° und eingespritzt.
- 2) 0,1 g Zellen + 0,012 ccm Wiener Immunsérum + 1,5 ccm NaCl steht $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37°, zugesetzt 0,3 ccm Vibrionen, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, eingespritzt.
- 3) 0,3 ccm Vibrionen + 1,5 ccm aktives Meerschw.-Serum, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, zugesetzt 0,012 ccm Wiener Immunsérum, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, eingespritzt.
- 4) 0,012 ccm Wiener Immunsérum + 1,5 ccm aktives Meerschw.-Serum, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, zugesetzt 0,3 ccm Vibrionen, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, eingespritzt.
- 5) und 6) genau wie 3 und 4, aber statt mit aktivem Serum mit aktiver Exsudatflüssigkeit, welche durch vollständiges Abzentrifugieren des Exsudates des zellliefernden Tieres erhalten war.
- 7) 0,1 g Zellen + 0,3 ccm Vibrionen + 1,5 ccm aktives Meerschw.-Serum, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, zugesetzt 0,012 ccm Wiener Immunsérum, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, eingespritzt.
- 8) wie 7, aber mit aktiver Exsudatflüssigkeit.
- 9) 0,3 ccm Vibrionen + 1,8 ccm NaCl-Lösung $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, zugesetzt 0,012 ccm Wiener Immunsérum, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, eingespritzt.

Meerschw. 424 mit Probe 1: 34,4, 31,0, 30,1, unter 30°, Tod nach 9 Stunden, mäßige Zellenzahl, steril.

„ 425 mit Probe 2: 37,8, 35,4, 35,7, 37,3, 38,5°, ohne Krankheit.

„ 426 mit Probe 3: 33,2, 31,9, 31,3, 31,3, 31,0°, Tod nach 12 bis 19 Stunden, ziemlich reichlich Zellen, steril.

„ 427 mit Probe 4: nach $\frac{1}{2}$ Stunden tödlicher, bezeichnender Anaphylaxieshock.

„ 428 mit Probe 5: 30,7°, Tod nach 2—4 Stunden, ohne beobachtete anaphylaktische Erscheinungen. Exsudat trüb, mit wenig Zellen und viel Epithelien, Vibrionen sofort, wenn auch nicht sehr reichlich, zu finden.

„ 428a mit Probe 6: 32,2, unter 30°, Tod nach 7 Stunden, Exsudat trüb mit sehr zahlreichen Vibrionen.

- Meerschw. 429 mit Probe 7: 37,3, 35,5, 36,0, 36,5, 38,0°, ohne Krankheit.
„ 430 mit Probe 8: 36,4, 34,5, 34,8, 34,8, 37,1°, überlebt mit vorübergehender Krankheit.
„ 431 mit Probe 9: 34,1, unter 30°, unter 30°, Tod nach 8 Stunden, zellfrei, steril.

Zellen allein haben die aus dem raschen Tode des Kontrolltieres 431 kenntliche schwere Vibrionenvergiftung vollständig aufgehoben (Meerschw. 425), waren dazu aber nicht imstande, wenn die Vibrionen vor Zusatz des Wiener Immunserums $\frac{1}{2}$ Stunde auf sie eingewirkt hatten (Meerschw. 424). Waren die Zellen aber statt in NaCl-Lösung in aktivem Meeresschweinchenserum (Meerschw. 429) oder in ihrem ursprünglichen Medium, der sterilen, zellfreien Exsudatflüssigkeit, aufgeschwemmt (Meerschw. 430), so erwiesen sie sich als gegen die schädliche Vibrionenwirkung geschützt. Von großem Interesse ist dabei der Befund, daß die Exsudatflüssigkeit bei ihrer alleinigen Anwendung die sensibilisierende Wirkung des Immunserums aufgehoben und Wachstum der Vibrionen im Tiere ermöglicht hatte (Meerschw. 428 und 429), während bei allen anderen Tieren nach $\frac{1}{2}$ Stunde die Bakteriolyse in der Bauchhöhle, meist bis zum Verschwinden der Granula, abgelaufen war. Dieser mitunter zu erhebende Befund scheint geeignet, ein Licht auf die Erklärung des Metschnikoff'schen Versuches zu werfen, wonach bei Tieren mit eitriger steriler Bauchhöhle bei Einspritzung von Vibrionen und reichlich Immunserum keine Bakteriolyse erfolgt. — Die alleinige Wirkung des aktiven Meeresschweinchenserums ist nicht deutlich zu erkennen, da Meerschw. 427 anaphylaktisch starb und auch Meerschw. 426 an dem raschen Eintritt des Wärmesturzes Anaphylaxie erkennen läßt; da aber das letztere doch verhältnismäßig lange lebte und ansehnliche Zellmengen in die Bauchhöhle übertreten ließ, scheint die Annahme einer Schutzwirkung des Serums, die durch die Behandlung mit Vibrionen nicht vollkommen aufgehoben ist, berechtigt.

Jedenfalls zeigt der Versuch, daß Zellen und Körperflüssigkeit, die jedes für sich entweder unfähig zur Vibrionenentgiftung sind oder wo die vorhandene Entgiftung durch Vibrionenwirkung aufgehoben wird, vereint dieser Zerstörung Widerstand zu leisten vermögen.

- 1) 0,1 g Zellen + 0,3 ccm Vibrionen + 1,5 ccm NaCl, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, zugesetzt 0,012 ccm Wiener Immunserum $\frac{1}{2}$ Stunde 37°.
- 2) 0,1 g Zellen + 0,3 ccm Vibrionen + 1,25 ccm NaCl + 0,25 ccm Meersch.-Serum aktiv, dann wie 1.
- 3) 0,1 g Zellen + 0,3 ccm Vibrionen + 0,75 ccm NaCl + 0,75 ccm Meersch.-Serum aktiv, dann wie 1.
- 4) 0,1 g Zellen + 0,3 ccm Vibrionen + 1,5 ccm Meersch.-Serum aktiv, dann wie 1.
- 5) 0,1 g Zellen + 0,3 ccm Vibrionen + 1,5 ccm Meersch.-Serum inaktiv, dann wie 1.
- 6) 0,1 g Zellen + 0,012 ccm Wiener Immunserum + 1,5 ccm NaCl, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, zugesetzt 0,3 ccm Vibrionen, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°.
- 7) 0,3 ccm NaCl + 0,012 ccm Wiener Immunserum + 1,25 ccm NaCl + 0,25 ccm Meersch.-Serum aktiv, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, zugesetzt 0,3 ccm Vibrionen, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°.
- 8) 0,3 ccm NaCl + 0,012 ccm Wiener Immunserum + 0,75 ccm NaCl + 0,75 ccm Meersch.-Serum aktiv, dann wie 7.
- 9) 0,3 ccm NaCl + 0,012 ccm Wiener Immunserum + 1,5 ccm Meersch.-Serum, aktiv, dann wie 7.
- 10) 0,3 ccm NaCl + 0,012 ccm Wiener Immunserum + 1,5 ccm Meersch.-Serum, inaktiv, dann wie 7.

Meerschw. 434 mit Probe 1: 35,8, 31,8, unter 30°, Tod nach $7\frac{1}{2}$ Stunden, zellfrei, steril.

„ 435 mit Probe 2: 38,1, 34,5 32,0, 30,3, unter 30°, Tod nach 10 Stunden, reichlich Zellen, steril.

„ 436 mit Probe 3: 34,7, 34,0, 32,3, 32,7, 30,1°, Tod nach etwa 18 Stunden, reichlich Zellen, steril.

„ 437 mit Probe 4: 37,5, 35,2, 35,2, 36,3°, überlebt ohne besondere Krankheit.

„ 438 mit Probe 5: 34,0, unter 30°, unter 30°, Tod nach $7\frac{1}{2}$ Stunden, wenig Zellen, steril.

„ 439 mit Probe 6: 36,0, 33,6, 35,0, 36,2°, überlebt ohne besondere Krankheit.

„ 440 mit Probe 7: 34,7, 31,6, unter 30°, unter 30°, Tod nach 9 Stunden, wenig Zellen, steril.

„ 441 mit Probe 8: 35,2, 31,3, unter 30°, unter 30°, Tod nach 9 Stunden, wenig Zellen, steril.

„ 442 mit Probe 9: 36,2, 33,0, 32,2, 31,8, 32,0°, Tod nach 22 Stunden, Eiter, steril.

„ 443 mit Probe 10: 32,4, unter 30°, unter 30°, Tod nach 7 Stunden, fast zellfrei, steril.

Wie immer hatte auch hier das gute Entgiftungsvermögen, das Zellen mit Immunserum bei Meerschw. 439 zeigten, aufgehört, sobald das Immunserum erst nach $\frac{1}{2}$ -ständiger Einwirkung der Vibrionen auf die Zellen zugefügt wurde (Meerschw. 434). Zusatz von aktivem Meerschweinchenserum in der Menge von 1,5 ccm hob bei Meerschw. 437 diese schädliche Wirkung der Vibrionen vollständig auf, während 0,25 und 0,75 ccm dazu nicht ausreichten, wenngleich die längere

Lebensdauer und besonders der Todesbefund der Tiere 435 und 436 auch hier die Wirkung des Serums erkennen ließ. Inaktiviertes Meerschweinchenserum hat seine Schutzwirkung vollkommen eingebüßt (Meerschw. 438). Nicht unwichtig ist es, daß in diesem Versuche das aktive Meerschweinchenserum an sich nur schwach entgiftete und den Tod von Meerschw. 442 selbst mit 1,5 ccm nicht zu verhindern vermochte.

Durch diese Versuche ist somit festgestellt, daß lebende Vibrionen schon durch kurze Einwirkung auf normale Leukocyten deren Entgiftungsvermögen zerstören und daß sie in dieser Wirkung einerseits durch bakterizides Immunserum, andererseits durch aktives Normalserum gehindert werden. Die so ermöglichte Schutzwirkung des letzteren für Zellen kann nicht durch den Gehalt an normalen Immunkörpern erklärt werden, da sie bei Inaktivierung spurlos verloren geht. Infolgedessen muß der Mechanismus der Wirkung bakteriziden Immun- und aktiven Normalserums ein verschiedener sein.

Darauf warfen Versuche neues Licht, welche sich mit der Untersuchung des Einflusses befassen, den vibrionenhaltige Exsudate intraperitoneal infizierter Tiere auf Leukocyten ausüben.

Das mit steriler Pipette entnommene Exsudat dreier intraperitoneal mit *Vibrio Kadikjōi* infizierter Meerschweinchen wurde vollständig klar zentrifugiert, so daß im gefärbten Ausstriche nur noch ganz vereinzelte Vibrionen erkennbar waren.

- 1) 0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 2 ccm NaCl und 1a) 0,3 ccm Vibrionen + 0,012 ccm Wiener Immunserum.
- 2) 0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 1,5 ccm NaCl + 0,5 ccm infiziertes Exsudat und 2a) ganz wie 1a.
- 3) 0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 2 ccm infiziertes Exsudat und 3a) ganz wie 1a.
- 4) Wie 3, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann zentrifugiert, der Satz in 2 ccm NaCl und 4a) ganz wie 1a.
- 5) Genau wie 4 gewonnen, nicht zentrifugiert und 5a) 0,3 ccm NaCl + 0,012 ccm Wiener Immunserum.

Die Proben stehen getrennt je $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37°, dann werden die zugehörigen miteinander vereint und wieder $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° gehalten. Dabei wurde die Beobachtung gemacht, daß sich die Zellen im infizierten Exsudate außerordentlich rasch und fest zusammenballen.

Meerschw. 505 mit Probe 1, 1a: 35,2, 35,8, 37,2 38,0, 38,7°, ohne Krankheit.
 „ 506 mit Probe 2, 2a: 36,5, 32,1, 31,2, 31,0, unter 30°, Tod nach etwa 12 Stunden, mäßige Zahl Zellen, steril.

Meerschw. 507 mit Probe 3, 3a: 37,2, 34,4, 30,8°, dann immer unter 30°, Tod nach etwa 12 Stunden, sehr zellarm, steril.

„ 508 mit Probe 4, 4a: 36,4, 33,5, 31,3°, immer unter 30°, Tod und Befund wie 507.

„ 509 mit Probe 5, 5a: 36,4, 36,4, 38,0, 38,0, 39,2°, ohne Krankheit.

Die Zellen, welche die Vibrionen für Meerschw. 505 tadellos entgiftet hatten, hatten infolge des Zusatzes von 0,5 und 2 ccm des infizierten Exsudates oder auch (Meerschw. 508) nach einem $\frac{1}{2}$ -stündigem Aufenthalte in diesem und Entfernung des überschüssigen Exsudates jedes Entgiftungsvermögen verloren. Die Kontrolle 509 zeigt, daß das Exsudat selbst so gut wie keine Gift- oder sonst schädliche Wirkung auf Tiere ausübt, eine Kontrolle, welche für die Versuchsanordnung bei Meerschw. 508 überhaupt nicht nötig war.

Im Exsudate infizierter Tiere ist somit etwas enthalten, was in gleicher Weise wie lebende Vibrionen die Entfaltung der Zellwirkung verhindert.

- 1) 0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 2 ccm NaCl und 1 a) 0,012 ccm Wiener Immunserum + 0,3 ccm Vibrionen.
- 2) 0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 1,5 ccm NaCl + 0,6 ccm infiziertes Exsudat und 2a) genau wie 1a.
- 3) 0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 1,5 ccm Meerschw.-Serum aktiv + 0,6 ccm infiziertes Exsudat und 3a) genau wie 1a.
- 4) 0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 1,5 ccm Meerschw.-Serum inaktiv + 0,6 ccm infiziertes Exsudat und 4a) genau wie 1a.
- 5) 0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 0,075 ccm Serum III in 1,5 ccm NaCl + 0,6 ccm infiziertes Exsudat und 5a) genau wie 1a.
- 6) 0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 0,075 ccm behandeltes Serum III in 1,5 ccm NaCl + 0,6 ccm infiziertes Exsudat und 6a) genau wie 1a.

Das „behandelte“ Serum III besteht aus einer Mischung von 0,2 ccm Serum III + 0,5 ccm Vibrionen + 3,3 ccm NaCl-Lösung, welche $\frac{1}{4}$ Stunde bei 37° belassen, dann scharf zentrifugiert wurde. Die 0,075 ccm verdünntem Serum III entsprechende Menge wurde der Probe 6 zugesetzt. Alle Proben standen getrennt $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37°, dann wurden die entsprechenden Anteile vermischt und nach neuerlichem $\frac{1}{4}$ -stündigen Aufenthalte bei 37° eingespritzt.

Meerschw. 511 mit Probe 1, 1a: 38,2, 36,2, 36,2, 37,0, 37,6°, ohne Krankheit.

„ 512 mit Probe 2, 2a: 36,9, 32,0, unter 30°, Tod nach 8 Stunden, zellarm, steril.

„ 513 mit Probe 3, 3a: 37,0, 35,1, 35,1, 34,8, 35,5°, überlebt ohne besondere Krankheit.

„ 514 mit Probe 4, 4a: 35,8, 31,6, unter 30°, Tod nach 7 Stunden, zellarm, steril.

„ 515 mit Probe 5, 5a: 36,2, 36,8, 37,6, 37,8, 39,3°, ohne Krankheit.

„ 516 mit Probe 6, 6a: 37,0, 35,5, 36,6, 37,8, 39,4°, ohne Krankheit.

Die Zellen haben Meerschw. 511 gegen die sensibilisierten Vibrionen sehr gut, aber gar nicht mehr dann geschützt, wenn 0,6 ccm des infizierten Exsudates zugegen war. Die Wirkung dieses aber wurde durch das antitoxische Serum III, und zwar selbst dann aufgehoben, wenn es vorher mit einer Vibrionenmenge behandelt war, die dessen Gehalt an bakteriziden Immunkörpern sicher beseitigt haben mußte. Ebenso vermochte normales aktives Meerschweinchenserum die schädliche Wirkung des infizierten Exsudates aufzuheben, während Inaktivierung es ganz unwirksam machte. Die Uebereinstimmung im Verhalten gegen lebende Vibrionen und gegen derart infiziertes Exsudat fällt sofort auf.

- 1) 0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 1,5 ccm NaCl + 0,6 ccm NaCl.
- 2) 0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 1,5 ccm NaCl + 0,6 ccm infiziertes Exsudat.
- 3) 0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 1 ccm NaCl + 0,5 ccm Meerschw.-Serum aktiv + 0,6 ccm infiziertes Exsudat.
- 4) 0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 1,5 ccm Meerschw.-Serum aktiv + 0,6 ccm infiziertes Exsudat.
- 5) 0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 0,6 ccm infiziertes Exsudat, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann 1 ccm NaCl + 0,5 ccm Meerschw.-Serum aktiv.
- 6) Zellen wie in 5), $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann 1,5 ccm Meerschw.-Serum aktiv.
- 7) 0,3 ccm NaCl + 0,6 ccm infiziertes Exsudat + 1 ccm NaCl + 0,5 ccm Meerschw.-Serum aktiv.
- 8) 0,3 ccm NaCl + 0,6 ccm infiziertes Exsudat + 1,5 ccm Meerschw.-Serum aktiv.
- 9) 0,9 ccm NaCl + 1 ccm NaCl + 0,5 ccm Meerschw.-Serum aktiv.
- 10) 0,9 ccm NaCl + 1,5 ccm Meerschw.-Serum aktiv.

Nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Aufenthalte der Proben bei 37° wird überall eine ebenfalls $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° gestandene Mischung von 0,3 ccm Vibrionen + 0,012 ccm Wiener Immunserum zugesetzt, und nach weiterem $\frac{1}{4}$ -stündigen Aufenthalte bei 37° erfolgt die Einspritzung.

- Meerschw. 519 mit Probe 1: 37,5, 37,6, 37,8, 39,9, 39,0°, ohne Krankheit
- „ 520 mit Probe 2: 35,2, 30,5, unter 30°, Tod nach 7 Stunden, fast zellfrei, steril.
- „ 521 mit Probe 3: 37,2, 34,8, 32,4, 32,6, 32,2°, war sehr krank, schließlich erholt.
- „ 522 mit Probe 4: 37,3, 37,5, 37,2, 38,0, 39,2°, ohne Krankheit.
- „ 523 mit Probe 5: 35,2, 33,6, 33,6, 33,6, 33,0°, sehr krank, erholt
- „ 524 mit Probe 6: 35,3, 35,8, 35,6, 35,2, 35,3°, vorübergehend krank.
- „ 525 mit Probe 7: 36,0, 32,5, 31,7, unter 30°, Tod nach 10 Stunden, zellarm, steril.
- „ 526 mit Probe 8: 37,2, 36,5, 35,2, 33,2°, Tod nach 10 $\frac{1}{4}$ Stunden, zellarm, steril.

Meerschw. 527 mit Probe 9: 35,8, 31,2, immer unter 30°, Tod nach 9 Stunden, zellarm, steril.

„ 528 mit Probe 10: 36,5, 33,4, 32,2, 33,2, 34,2°, nach schwerer Krankheit erholt.

Die sehr gute Entgiftung der Zellen bei Meerschw. 519 wird infolge des Zusatzes von infiziertem Exsudate bei Meerschw. 520 vollständig aufgehoben. Dagegen schützt ein Zusatz von 0,5 ccm aktivem Meerschweinchenserum deutlich, von 1,5 ccm bei Meerschw. 522 vollständig; noch wichtiger ist, daß in ganz vergleichbarer Weise die durch das infizierte Exsudat geschädigten Leukocyten durch 0,5 ccm aktives Meerschweinchenserum teilweise (Meerschw. 523), durch 1,5 ccm so gut wie vollständig wirksam werden (Meerschw. 524). Dabei vermag das Serum in keiner der angewendeten Mengen mit infiziertem Exsudate zusammen und auch ohne dieses nur in der Menge von 1,5 ccm unvollkommen zu entgiften.

Es geht aus dem Versuche somit mit Sicherheit hervor, daß die Wirkung des im infizierten Exsudate enthaltenen Agens sich nur gegen einen Teil der Leukocytenwirkung richtet, der durch aktives Meerschweinchenserum ergänzt werden kann. Das kann aber der ganzen Sachlage nach nur derjenige sein, welcher gleichzeitig hitzeempfindlich ist, also in gewisser Hinsicht Komplementcharakter hat. Die zusammengesetzte Natur der Leukocytenentgiftung läßt sich also auch aus dieser Versuchsanordnung erschließen.

Das wurde sogleich bei Einschaltung anderer Versuchsbedingungen bestätigt.

- 1) 0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 0,8 ccm NaCl, bleibt $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann zugesetzt 5 ccm NaCl, zentrifugiert, Satz in 1,6 ccm NaCl, $\frac{1}{2}$ Stunde Zimmertemperatur, dann mit 0,3 ccm Vibrionen und 0,012 ccm Wiener Immunserum $\frac{1}{2}$ Stunde 37°.
- 2) 0,1 g Zellen + 0,8 ccm infiziertes Exsudat, bleibt $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann ganz wie 1).
- 3) Wie 2), abzentrifugierter Satz in 0,6 ccm NaCl + 1 ccm Meerschw.-Serum aktiv aufgenommen, dann ganz wie 1).
- 4) Wie 2), abzentrifugierter Satz in 0,1 g Zellen, in 0,3 ccm NaCl + 0,6 ccm infiziertes Exsudat + 0,7 ccm NaCl aufgenommen, dann ganz wie 1).
- 5) Wie 2), abzentrifugierter Satz in 0,6 ccm infiziertes Exsudat + 1 ccm Meerschw.-Serum aktiv aufgenommen, dann ganz wie 1).
- 6) 1 ccm Meerschw.-Serum aktiv, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, zugesetzt 1,6 ccm NaCl, dann ganz wie 1).

Meerschw. 530 mit Probe 1: 37,5, 37,5, 37,5, 38,3, 39,0°, ohne Krankheit.

„ 531 mit Probe 2: 35,0, 30,3, dann immer unter 30°, Tod nach $9\frac{1}{2}$ Stunden, zellarm, steril.

- Meerschw. 532 mit Probe 3: 34,1, 34,0, 33,7, 34,3, 35,0°, deutlich krank, rasch erholt.
- „ 533 mit Probe 4: 34,6, 31,2, dann immer unter 30°, Tod nach 9 Stunden, zellarm, steril.
- „ 534 mit Probe 5: 35,3, 33,1, 31,0, dann immer unter 30°, Tod nach 10 $\frac{1}{2}$ Stunden, zellarm, steril.
- „ 535 mit Probe 6: 37,5, 35,3, 34,0, 32,3, unter 30°, Tod nach 12 bis 19 Stunden, ziemliche Zahl von Zellen, steril.

In diesem Versuche konnte bei den Tieren 530–534 das infizierte Exsudat zunächst ganz allein auf die für die Entgiftung bestimmten Zellen einwirken. Während nur mit Kochsalzlösung behandelte Leukocyten die sensibilisierten Vibrionen für Meerschw. 530 tadellos entgifteten, waren sie nach der Exsudatbehandlung dazu in keiner Weise mehr befähigt (Meerschw. 531). Durch Zusatz von 1 ccm aktivem Meer-schweinchenserum, das an sich in dieser Menge bei Meer-schweinchen 535 nur Spuren von Entgiftung aufwies, wurde die verlorene Entgiftung insoweit wieder ergänzt, daß Meer-schweinchen 532 mit Wärmesenkung und Krankheit davonkam. Hingegen vermochten frisch zugesetzte Zellen oder Serum, wenn gleichzeitig 0,6 ccm des infizierten Exsudates angewendet wurden, keine Wiederkehr des Entgiftungsvermögens herbeizuführen, und die Tiere 533 und 534 starben schutzlos.

Statt des durch intraperitoneale Impfung natürlich infizierten Exsudates kann man leicht ein künstliches herstellen, wenn man das Exsudat mit steriler Bouillon vorbehandelter Tiere nach Entfernung der Zellen mit reichlich Vibrionen behandelt.

Ueber die 16 Stunden alte Zuchtfläche einer Kolleschen, mit *Vibrio Kadikjōji* beimpften Schale wurden etwa 40 ccm klarzentrifugierter, steriler Exsudatflüssigkeit gegossen und die Schale damit (der Vibrionenrasen löste sich leicht ab) etwa 8 Stunden bei 37° gehalten und zentrifugiert.

- 1) 0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 0,5 ccm infiziertes Exsudat + 1,5 ccm NaCl, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°.
- 2) 0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 2 ccm infiziertes Exsudat, $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann zentrifugiert, Satz in 2 ccm NaCl.
- 3) 0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 0,5 ccm infiziertes Exsudat, das vorher $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmt war, + 1,5 ccm NaCl.
- 4) 0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 2 ccm auf 56° erwärmtes infiziertes Exsudat, dann wie 2).

Den Proben wurden je 0,3 ccm Vibrionen + 0,012 ccm Wiener Immunserum zugesetzt und dieselben nach $\frac{1}{2}$ -ständigem Aufenthalte bei 37° eingespritzt.

- Meerschw. 536 mit Probe 1: 33,4, 31,8, 30,8°, Tod nach 7 $\frac{1}{2}$ Stunden, fast zellfrei, steril.
- „ 537 mit Probe 2: 33,6, 32,5, 32,7, 30,8, unter 30°, Tod nachts, mäßige Zahl Zellen, steril.
- „ 538 mit Probe 3: 33,0, 32,4, 33,2, 34,0, 34,0°, nach Krankheit erholt.
- „ 539 mit Probe 4: 37,4, 35,3, 33,6, 35,5, 36,3°, etwas krank, erholt.

Die Zellen sind die gleichen wie im vorigen Versuche, so daß das Tier 530 auch hier den Kontrollversuch für die entgiftende Wirkung der Zellen abgibt.

Die gute Wirkung des künstlich hergestellten „Exsudates“ ist ohne weiteres zu erkennen, ebenso die Zerstörung derselben durch vorhergehende Erhitzung, die, nach der Krankheit von Meerschw. 538 und 539 zu schließen, keine ganz vollständige, aber eine sehr weitgehende ist.

Dieses künstliche Exsudat wurde zur Untersuchung seiner Beeinflussung durch bakterizides und antitoxisches Serum verwendet.

Je 1 ccm künstlichen Exsudates wurde in den Proben 1, 2, 3 mit 0,1 ccm NaCl-Lösung, 0,1 ccm Wiener Immunserum und 0,1 ccm Serum III versetzt und $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° gehalten; dann wurden überall je 0,1 g Leukocyten (in je 0,3 ccm NaCl-Lösung) zugesetzt, nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Aufenthalte bei 37° und dann Zusätze von etwa je 12 ccm NaCl-Lösung zentrifugiert, dem Zellsatz je 0,3 ccm Vibrionen + 0,012 ccm Wiener Immunserum zugesetzt und nach $\frac{1}{4}$ -stündigem Aufenthalte bei 37° eingespritzt.

- Meerschw. 541 mit Probe 1: 32,0, 29,5, 27,0°, Tod nach 7 $\frac{1}{2}$ Stunden, zellarm, steril.
- „ 542 mit Probe 2: 32,6, 31,2, 31,0, 32,0, 32,8°, Tod in der Nacht, mäßig zellhaltig, steril.
- „ 543 mit Probe 3: 35,6, 33,3, 34,0, 35,5, 35,5°, nach bald vorübergehender Krankheit erholt.

Es ist sofort zu ersehen, daß nur das antitoxische Serum die Schädlichkeit des künstlichen Exsudates aufhebt, nicht aber das bakterizide, dessen Einfluß kaum angedeutet ist. Ähnliches beweist der mit den gleichen Zellen ausgeführte folgende Versuch.

- 1) (0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 0,4 ccm künstlichem Exsudat) $\frac{1}{2}$ Stunde 37° und 1a) (0,012 ccm Wiener Immunserum + 0,3 ccm Vibrionen + 0,6 ccm NaCl) $\frac{1}{2}$ Stunde 37°.
- 2) (0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 0,4 ccm künstlichem Exsudat + 0,012 ccm Wiener Immunserum) $\frac{1}{2}$ Stunde 37° und 2a) (0,3 ccm Vibrionen + 0,7 ccm NaCl $\frac{1}{2}$ Stunde 37°.

- 3) (0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 0,012 ccm Wiener Immunserum + 0,4 ccm NaCl $\frac{1}{2}$ Stunde 37° und 3a) (0,4 ccm künstliches Exsudat + 0,3 ccm Vibrionen + 0,3 ccm NaCl) $\frac{1}{2}$ Stunde 37°.
- 4) (0,1 g Zellen in 0,3 ccm NaCl + 0,4 ccm NaCl) $\frac{1}{2}$ Stunde 37° und 4a) (0,012 ccm Wiener Immunserum + 0,3 ccm Vibrionen + 0,6 ccm NaCl) $\frac{1}{2}$ Stunde 37°.

Die Proben werden gemischt und vor der Einspritzung $\frac{1}{4}$ Stunde bei 37° gehalten.

- Meerschw. 544 mit Probe 1, 1a: 29,5, 29,0, 29,8. 29,0, 28,0°, Tod nach etwa 12 Stunden, zellarm, steril.
- „ 545 mit Probe 2, 2a: 31,0, 30,2. 28,5°, Tod nach 7 Stunden, zellarm, Vibrionen mikroskopisch nachweisbar.
- „ 546 mit Probe 3, 3a: 31,5, 31,0, 29,5°, Tod nach 7 $\frac{1}{2}$ Stunden zellarm, steril.
- „ 547 mit Probe 4, 4a: 37,5, 37,5, 37,0, 37,8, 37,0°. ohne Krankheit.

Es ist aufs deutlichste zu sehen, daß die sehr gute entgiftende Wirkung der Zellen schon durch 0,4 ccm des künstlichen Exsudates aufgehoben wird, wobei es ganz ohne Bedeutung ist, in welcher Reihenfolge Zellen, Exsudat und bakterizides Immunserum aufeinander einwirken. Man kann daher sagen, daß in diesem künstlichen und wohl auch im natürlichen Exsudate ein zellschädigender Einfluß vorhanden ist, der wohl durch antitoxisches, nicht aber durch bakterizides Serum wettgemacht werden kann. Im Gegensatz dazu macht aber das künstliche Exsudat das bakterizide Serum unwirksam; denn wenn auch nicht zu zweifeln ist, daß das Tier 545 an Vergiftung und nicht an Vermehrung der Vibrionen gestorben ist, so beweist doch der Befund von nicht aufgelösten Vibrionen eine sehr bedeutende Schwächung der Serumbakterizidie, die nach der Herkunft des als Vibrionenextrakt zu betrachtenden künstlichen Exsudates nicht verwunderlich ist.

Es sei noch ein, zwar in einer Kontrolle durch unglücklichen Zufall mißlungener, sonst aber ungemein lehrreicher Versuch in dieser Richtung angeführt.

- 1) 0,1 g Zellen + 1,5 ccm NaCl $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, mit 10 ccm NaCl zentrifugiert, Satz in 1 ccm NaCl + 0,012 ccm Wiener Immunserum + 0,3 ccm Vibrionen, $\frac{1}{4}$ Stunde 37°.
- 2) 0,1 g Zellen + 1,5 ccm infiziertes Exsudat $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann ganz wie 1).
- 3) 0,1 g Zellen + 1,5 ccm infiziertes Exsudat + 0,15 ccm Serum III $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann ganz wie 1).
- 4) 0,1 g Zellen + 1,5 ccm infiziertes Exsudat + 1,5 ccm aktives Meerschw.-Serum $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann ganz wie 1).

- 5) 1,5 ccm aktives Meersch.-Serum + 1,5 ccm NaCl $\frac{1}{4}$, Stunde 37°, dann zugesetzt 0,3 ccm Vibrionen + 0,012 ccm Wiener Immunserum.
- 6) 1,5 ccm aktives Meersch.-Serum + 1,5 ccm NaCl + 0,15 ccm Serum III, dann ganz wie 5).
- 7) 1,5 ccm aktives Meersch.-Serum + 1,5 ccm infiziertes Exsudat, dann ganz wie 5).
- 8) 1,5 ccm aktives Meersch.-Serum + 1,5 ccm infiziertes Exsudat + 0,15 ccm Serum III, dann ganz wie 5).

Das infizierte Exsudat entstammte einem vorher mit 0,3 ccm lebenden Vibrionen intraperitoneal infizierten Meerschweinchen, das nach 5 Stunden bereits mit enormer Vermehrung der Vibrionen gestorben war. Beim Zentrifugieren und Abgießen der Probe 1 geschah das Unglück, daß ein großer Teil des nicht fest anhaftenden Zellklumpens herausglitt und verloren ging, so daß höchstens $\frac{1}{4}$ der bestimmten Zellmenge zur Verwendung kam.

- Meersch. 615 mit Probe 1: 31,6, 26,8, 26,3, 26,0°, Tod nach 9 Stunden, mäßige Zahl Zellen, steril.
- „ 616 mit Probe 2: 30,2, 30,8, 31,2 30,0°, Tod nach 10 Stunden, zellarm, steril.
- „ 617 mit Probe 3: 36,8, 33,3, 33,0, 35,5, 36,3°, ohne besondere Krankheit.
- „ 618 mit Probe 4: 34,5, 30,6, 30,0, 30,0, 30,0°, Tod in der Nacht mäßige Zahl Zellen, steril.
- „ 619 mit Probe 5: 38,0, 32,1, 32,1, 28,0°, Tod nach 10 Stunden, zellarm, steril.
- „ 620 mit Probe 6: 37,2, 30,4, 29,0, 28,0°, Tod nach 10 Stunden, zellarm, steril.
- „ 621 mit Probe 7: 30,8, 28,8, 27,8, 27,0°, Tod nach 10 Stunden, zellarm, steril.
- „ 622 mit Probe 8: 36,3, 28,8°, Tod nach 6 Stunden, zellarm, steril.

Der Tod der Kontrolle für die Leukocytenentgiftung bei Meersch. 615 ist leicht erklärt. Die vollständige Zerstörung der Zellwirkung durch das infizierte Exsudat wird durch das antitoxische Serum III bei Meersch. 617 fast vollständig aufgehoben, obwohl dieses Serum zusammen mit aktivem Meerschweinchen Serum bei Zusatz von infiziertem Exsudat und ohne diesen keinerlei Einfluß auf den Verlust der Vergiftung zu nehmen vermochte (Meersch. 620 und 622). Das Meerschweinchen Serum selbst schützte natürlich auch nicht und vermochte auch diesmal den Einfluß des infizierten Exsudates nicht aufzuheben, wenngleich das betreffende Versuchstier 618 auffällig lange lebte und auch einen erhöhten Zellgehalt der Bauchhöhle aufwies, was als recht brauchbares Zeichen der einigermaßen doch erfolgten Vibrionenentgiftung angesehen werden kann.

Eine etwaige Eigengiftigkeit des infizierten Exsudates kommt für die Versuche mit den Proben 5—8 nicht in Frage, da diese durch Serum III hätte beseitigt werden müssen; es ist aber kein Unterschied im Verhalten der Tiere 619 und 621 gegen 620 und 622 festzustellen.

Die wohltätige Wirkung des Serums III äußert sich daher nur dann, wenn Zellen zugegen sind, denen offenbar die Beseitigung des Leibesgiftes allein überlassen ist, während Serum III dagegen nur sehr wenig vermag und auch nach Zusatz von Meerschweinchenserum im ganzen machtlos bleibt, was schon aus früheren Versuchen bekannt war.

Zusammengefaßt, liegen somit die Verhältnisse derart, daß die Vibrionen selbst das gegen sie gerichtete Entgiftungsvermögen normaler Leukocyten aufzuheben vermögen. Dies geschieht bei verhältnismäßig kurzer Berührung mit lebenden Vibrionen, ebensogut aber auch durch Produkte derselben, die sich im Exsudate infizierter Tiere, bei Wachsen in tierischen Flüssigkeiten und im wässerigen Auszuge an sich nicht vermehrungsfähiger Vibrionen (Haltung bei 42°) finden. Es läßt sich daraus mit der größten Wahrscheinlichkeit der Schluß ziehen, daß alle diese Wirkungen auf die gleiche Ursache zurückgehen, daß also die Fähigkeit lebender Vibrionen zur Aufhebung der Zellentgiftung auf der Ausscheidung des gleichen Erzeugnisses beruht, das sich im Exsudate u.s.f. findet und das als Lösungsgift oder als Teil desselben im Anszuge von Vibrionenleibern vorkommt.

Es läßt sich weiter zeigen, daß die antileukocytaire Wirkung der Vibrionen sich nicht gegen das Entgiftungsvermögen der Zellen als Ganzes richtet, sondern nur gegen denjenigen Anteil desselben, der durch aktives Meerschweinchenserum ersetzt werden kann und von dem der ganzen Versuchslage nach angenommen werden muß, daß er mit dem durch Hitze von 56° zerstörbaren, durch Gefrieren schwer zu schädigenden Anteile der komplexen Zellentgiftung übereinstimmt.

Eine vollkommene Schutzwirkung gegen die Vibrionenwirkung vermag das antitoxische Serum III auszuüben, wobei es nicht zweifelhaft sein kann, daß diese sich unmittelbar gegen das im Exsudate, wie in Auszügen enthaltene zellschädigende Agens richtet. So wie das Serum III die Vergiftung des Ge-

samt tieres durch Lösungsgift verhindert, verhindert es auch die Schädigung der farblosen Blutzellen und läßt deren Wirkung gegen das Leibesgift zu, gegen das es selbst nur wenig auszurichten vermag. Man kann ohne Zwang annehmen, und die Versuche beweisen es, daß auch die lebenden Vibrionen ihrer zellschädigenden Eigenschaft durch Serum III verlustig werden, weil dieses die nach außen abgegebene entsprechende Komponente des Lösungsgiftes unschädlich macht. So erklärt sich die günstige Wirkung, die Serum III bei Gegenwart von Leukocyten auf die Vergiftung mit Vibrionenleibern auszuüben vermag.

Ganz anders muß der Einfluß beurteilt werden, den bakterizides Immunserum auf die Vergiftung von Vibrionen durch Leukocyten ausübt. Es vermag unmittelbar den zellschädigenden Einfluß der Vibrionen nicht wettzumachen, ist daher ohne Wirkung auf infiziertes oder künstliches Exsudat und Vibrionenzüge. Die Wirkung tritt nur bei Verwendung lebender Bakterien hervor und beruht offenbar wesentlich nur auf Bakteriolyse. Denn da bei der gleichzeitigen Mischung von Vibrionen, bakterizidem Immunserum und Zellen Gelegenheit zur Sensibilisierung gegeben ist, erfolgt unter dem Einflusse der Leukocyten eine derartige Schädigung der Vibrionen, daß sie an der Abgabe ihres antileukocyten Giftes verhindert werden und die Zellen dem Leibesgift gegenüber freies Feld vorfinden. Dabei ist es gleichgültig, ob die Schädigung der Vibrionen durch die Verbindung von Zellen und Immunserum eine wirkliche Bakteriolyse ist, bei der die Zellen das Komplement liefern, oder ob Phagocytose oder Kontakt stattfindet.

Wieder anders ist die dritte Schutzwirkung für Leukocyten, die durch aktives Meerschweinchenserum, zu erklären. Daß sie von den vorhergehenden beiden ganz verschieden sein muß, beweist allein schon der Umstand, daß nur aktives Normalserum eine günstige Wirkung auf Zellen ausübt, inaktiviertes gar nicht mehr. Die etwa im Serum vorhandenen normalen Immunkörper sind daher unbeteiligt. Gerade die Notwendigkeit der Aktivität deutet darauf hin, daß das Normalserum nur etwas ergänzt, was die Vibrionen oder deren Abkömmlinge in den Leukocyten zerstört haben, jenen Anteil der Zellentgiftung, der durch Erhitzen oder Gefrieren mehr minder voll-

ständig verloren geht und der auch dann durch aktives Serum ersetzt werden kann. Uebrigens wäre auch, soweit Versuche mit lebenden Vibrionen in Betracht kommen, daran zu denken, daß das aktive Serum, vermöge seines Komplement- und normalen Immunkörpergehaltes bakterizid wirkt und damit die Lebenstätigkeit der Vibrionen und die Ausscheidung des zellschädigenden Agens verhindert. Die dem aktiven Serum eigentümliche Fähigkeit, selbst Leibesgift unschädlich zu machen, muß ebenfalls für gewisse Versuche in Erwägung gezogen werden.

Bezüglich der letzteren lieferte aber eine eigene Untersuchung besondere, im ersten Augenblicke sehr überraschende Ergebnisse. Es lag ja nahe, anzunehmen, daß die Vibrionen sich ebensogut der Leukocyten wie der entgiftenden Wirkung des Aktivserums zu entledigen wissen würden, daß also auch für die Serumentgiftung das Zusammenwirken von aktivem Serum gleichzeitig mit bakterizidem Immunserum notwendig, mindestens aber vorteilhaft sein würde.

- 1) 1,5 ccm akt. Meersch.-Serum + 0,3 ccm Vibrionen $\frac{1}{4}$, Stunde 37°, scharf zentrifugiert, Satz in 2 ccm NaCl + 0,015 ccm Wiener Immunserum $\frac{1}{4}$, Stunde 37°.
- 2) 1,5 ccm. akt. Meersch.-Serum + 0,3 ccm Vibrionen + 0,015 ccm Wiener Immunserum $\frac{1}{4}$, Stunde 37°, zentrifugiert, Satz in 2 ccm NaCl $\frac{1}{4}$, Stunde 37°.
- 3) 1,5 ccm NaCl + 0,3 ccm Vibrionen + 0,015 ccm Wiener Immunserum $\frac{1}{4}$, Stunde 37°, zentrifugiert, Satz in 2 ccm NaCl $\frac{1}{4}$, Stunde 37°.
- 4) 2 ccm Meersch.-Serum inakt. + 0,3 ccm Vibrionen + 0,015 ccm Wiener Immunserum $\frac{1}{4}$, Stunde 37°, zentrifugiert, Satz in 1,6 ccm NaCl + 0,6 ccm Meersch.-Serum akt.
- 5) 2 ccm NaCl + 0,3 ccm Vibrionen + 0,015 ccm Wiener Immunserum $\frac{1}{4}$, Stunde 37°, zentrifugiert, Satz wie bei No. 4.

Meersch. 549 mit Probe 1: 38,0, 37,4, 34,8, 35,3, 37,0°, überlebt ohne besondere Krankheit.

„ 550 mit Probe 2: 35,8, 31,6, 39,0, 29,0°, Tod nach 10 $\frac{1}{2}$ Stunden, Exsudat sehr zellreich, steril.

„ 551 mit Probe 3: 36,0, 32,0, 31,6, 30,5°, Tod nach 10 Stunden, Exsudat fast klar, sehr zellarm, steril.

„ 552 mit Probe 4: 32,6, 32,2, 30,0, 29,0°, Tod nach 9 $\frac{1}{2}$ Stunden, Exsudat zellreich, steril.

„ 553 mit Probe 5: 34,5, 32,6, 30,8, 28,5°, Tod nach 10 Stunden.

Läßt man also aktives Serum außerhalb des Tierkörpers auf Vibrionen einwirken und spritzt diese erst nach Entfernung desselben ein, so erweist sich nur jene Probe als entgiftet, wo nur Serum und Vibrionen aufeinander einwirken konnten, während Zusatz von bakterizidem Immunserum die Entgiftung

verhindert. Der Gegensatz zu den entsprechenden Zellversuchen liegt auf der Hand.

- 1) (0,35 ccm Vibrionen + 0,012 ccm Wiener Immunserum) $\frac{1}{4}$ Stunde 37° + 1,5 ccm Meersch.-Serum akt. $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, zentrifugiert, Satz in 2 ccm NaCl 20 Min. 37°.
- 2) (0,35 ccm Vibrionen + 0,1 ccm NaCl-Lösung) $\frac{1}{4}$ Stunde 37° + 1,5 ccm Meersch.-Serum akt. $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, zentrifugiert, Satz in 2 ccm NaCl + 0,012 ccm Wiener Immunserum 20 Min. 37°.
- 3) (0,35 ccm Vibrionen + 0,012 ccm Wiener Immunserum) $\frac{1}{4}$ Stunde 37° + 1,5 ccm NaCl $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, zentrifugiert, Satz in 2 ccm NaCl 20 Min. 37°.
- 4) (0,35 ccm Vibrionen + 0,012 ccm Wiener Immunserum) $\frac{1}{4}$ Stunde 37° + 2 ccm inakt. Meersch.-Serum $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, zentrifugiert, Satz in 1,4 ccm NaCl + 0,6 ccm Meersch.-Serum akt. 20 Min.
- 5) (0,35 ccm Vibrionen + 0,1 ccm NaCl) $\frac{1}{4}$ Stunde 37° + 2 ccm inakt. Meersch.-Serum $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, zentrifugiert, Satz in 1,4 ccm NaCl + 0,6 ccm Meersch.-Serum akt. + 0,012 ccm Wiener Immunserum 20 Min. 37°.
- 6) (0,35 ccm Vibrionen + 0,012 ccm Wiener Immunserum) $\frac{1}{4}$ Stunde 37° + 2 ccm NaCl $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, zentrifugiert, Satz in 1,4 ccm NaCl + 0,6 ccm Meersch.-Serum akt.

Meersch. 555 mit Probe 1: 33,8, 31,8, 29,6, 28,0°, Tod nach 11 Stunden, Exsudat zellreich, steril.

„ 556 mit Probe 2: 36,5, 34,6, 33,6, 34,6, 35,0°, nur vorübergehend krank.

„ 557 mit Probe 3: 33,0, 30,5, 29,0, 28,6°, Tod nach 11 Stunden, sehr zellarm, steril.

„ 558 mit Probe 4: 31,8, 32,5, 31,6, 31,0, 31,0°, Tod in der Nacht, mäßig zellreich, steril.

„ 559 mit Probe 5: 35,1, 32,3, 30,7, 30,9, 31,3°, war sehr krank, am nächsten Tage etwas erholt, starb nach etwa 40 Stunden, Bauchhöhle eitrig, steril.

„ 560 mit Probe 6: 33,6, 31,5, 30,6, 29,1°, Tod nach 11 Stunden, zellarm, steril.

Der Versuch bestätigt bei etwas geänderter Versuchsanordnung vollkommen den vorigen. Auffallend blieb, daß die beiden Tiere 550 und 555 zwar der Vergiftung erlegen waren, gleichzeitig aber sehr viel Zellen in der Bauchhöhle aufwiesen, ein Befund, der sonst für eine Vergiftung, bei der die Zellabhaltung in der Bauchhöhle so sehr auffällt, sicher ungewöhnlich ist. Die Tiere 552 und 553, sowie 558—560 gehören in die Reihe jener Versuche, bei denen die Möglichkeit der Ergänzung eines durch Inaktivierung seiner Entgiftungsfähigkeit beraubten Serums geprüft werden sollte. In der Tat zeigte No. 552 ebenfalls einen ungewöhnlichen Zellreichtum in der Bauchhöhle, und 559 überdies noch eine für Vergiftungsversuche sehr auffallende Lebensverlängerung. Da-

bei zeigte sich auch hier zwischen den beiden Tieren 558 und 559 ein erheblicher Unterschied im Krankheitsverlaufe, obwohl beide genau die gleichen Stoffe erhalten hatten, mit dem Unterschiede, daß bei 559 das inaktive Serum mit den Vibrionen vor Zusatz des bakteriziden Immunserums zusammen war, bei 558 gleichzeitig damit. Also der gleiche Umstand, der auch für aktives Serum bei den Tieren 555 und 556 eine so weitgehende Verschiedenheit des Ausganges herbeigeführt hatte. Es gehört das Ergebnis in die Reihe der schon angeführten, welche für die Ergänzungsmöglichkeit der durch Inaktivieren verloren gegangenen Serumentgiftung sprechen, ohne dieselbe streng beweisen zu können (vgl. Tiere 634 bis 637). Leider konnten die Versuche infolge nicht mehr zu behebenden Mangels an Versuchstieren nicht fortgesetzt werden, doch ließ sich wenigstens noch feststellen, daß auch Pferdeserum sich ganz wie Meerschweinchenserum verhält.

- 1) 2 ccm Pferdeserum akt. + (0,35 ccm Vibrionen + 0,012 ccm Wiener Immunserum) $\frac{1}{4}$ Stunde 37° , nach $\frac{1}{2}$ -ständigem Stehen bei 37° zentrifugiert, Satz in 2 ccm NaCl $\frac{1}{4}$ Stunde 37° .
- 2) 2 ccm Pferdeserum + 0,35 ccm Vibrionen nach $\frac{1}{2}$ -ständigem Stehen bei 37° zentrifugiert, Satz in 2 ccm NaCl + 0,012 ccm Wiener Immunserum $\frac{1}{4}$ Stunde 37° .
- 3) 0,5 ccm Pferdeserum akt. + 0,35 ccm Vibrionen + 1,5 ccm NaCl, nach $\frac{1}{2}$ -ständigem Stehen bei 37° zentrifugiert, Satz in 2 ccm NaCl + 0,012 ccm Wiener Immunserum $\frac{1}{4}$ Stunde 37° .
- 4) 0,5 ccm Pferdeserum akt. + 0,35 ccm Vibrionen + 1,5 ccm Pferdeserum inakt. nach $\frac{1}{2}$ -ständigem Stehen bei 37° zentrifugiert, Satz in 2 ccm NaCl + 0,012 ccm Wiener Immunserum $\frac{1}{4}$ Stunde 37° .

Meerschw. 561 mit Probe 1: 34,3, 32,1, 31,7, 31,3, 30,6°, Tod nach etwa 12 Stunden, mäßig zellhaltig, steril.

„ 562 mit Probe 2: 36,5, 34,2, 32,3, 32,0, 33,1°, nach Krankheit vollkommen erholt.

„ 563 mit Probe 3: 33,8, 32,4, 30,6, 29,5, 28,7°, Tod nach etwa 12 Stunden, mäßig zellhaltig, steril.

„ 564 mit Probe 4: 33,3, 31,4, 27,8°, Tod nach $7\frac{1}{2}$ Stunden, zellarm, steril.

Versuche mit Ergänzung inaktiven Pferdeserums durch kleine Mengen aktiven Pferde- und Meerschweinchenserums sind als wesentlich ergebnislos nicht aufgenommen; man ersieht aber aus dem Mitgeteilten, daß sich aktives Pferdeserum genau so wie Meerschweinchenserum verhält, d. h. daß es nur dann außerhalb des Tierkörpers gut entgiftet, wenn es ohne bakterizides Immunserum auf die Vibrionen einwirken kann,

4*

während bei gleichzeitigem Zusatze dieses die Entgiftung bis auf Reste verloren ist. Der bereits oben hervorgehobene scheinbare Gegensatz im Verhalten der Vibrionenentgiftung durch Zellen und Serum tritt also scharf hervor; für die ersteren ist die Gegenwart bakteriziden Immunserums notwendig, für letzteres geradezu schädlich. Eine Erklärung zu geben, ist nicht leicht, zumal die Versuchsbedingungen nicht genau gleichzuhalten sind; denn beim Zellversuche müssen die Zellen, also das entgiftende Agens miteingespritzt werden, beim Versuche mit Serum wurde dasselbe entfernt. Geschieht dies nicht, so ist die Entgiftung, wie bereits früher mitgeteilt, auch bei Gegenwart von bakterizidem Immunserum vollkommen. Auch darf nicht unerwähnt bleiben, daß in einem von 5 Versuchen mit aktivem Meerschweinchenserum das erwähnte Ergebnis nicht eintrat und daß in früheren Versuchen (diese Zeitschr.; Bd. 26, Heft 4) von der Erscheinung kaum etwas zu bemerken war. Sie soll daher hier, da Versuche, wie die oben angeführten, nicht aus der Welt geschafft werden können, nur verzeichnet sein ¹⁾).

Es sei nur noch als Ergänzung der Zellversuche ein Versuch über die geringste Vibrionenmenge angeführt, welche imstande ist, die Entgiftungskraft von 0,1 g Leukocyten aufzuheben, und im Zusammenhange damit eine Bestimmung der geringsten Menge von Serum III, welche die Wirkung einer bestimmten Vibrionenmenge auf Zellen aufzuheben vermag.

- 1) 0,1 g Zellen + 0,3 ccm NaCl $\frac{1}{4}$ Stunde 37° dann + 0,3 ccm Vibrionen + 0,012 ccm Wiener Immunserum $\frac{1}{4}$ Stunde 37°.
- 2) 0,1 g Zellen + 0,25 ccm NaCl + 0,05 ccm Vibrionen $\frac{1}{4}$ Stunde 37°, dann + 0,25 ccm Vibrionen + 0,012 Wiener Immunserum $\frac{1}{4}$ Stunde.
- 3) 0,1 g Zellen + 0,15 ccm NaCl + 0,15 ccm Vibrionen $\frac{1}{4}$ Stunde 37°, dann + 0,15 ccm Vibrionen + 0,012 Wiener Immunserum $\frac{1}{4}$ Stunde.
- 4) 0,1 g Zellen + 0,3 ccm Vibrionen $\frac{1}{4}$ Stunde 37°, dann + 0,3 ccm NaCl + 0,012 Wiener Immunserum $\frac{1}{4}$ Stunde.
- 5) 0,1 g Zellen + 0,3 ccm Vibrionen + 0,01 ccm Serum III $\frac{1}{4}$ Stunde 37°, dann + 0,012 ccm Wiener Immunserum in 1,5 ccm NaCl.
- 6) 0,1 g Zellen + 0,3 ccm Vibrionen + 0,05 ccm Serum III $\frac{1}{4}$ Stunde 37°, dann + 0,012 ccm Wiener Immunserum in 1,5 ccm.

1) Unter der Annahme, daß ein und dasselbe Komplement im Serum sowohl zur Bakteriolyse notwendig ist, als auch bei der Entgiftung deren hinfälligen Anteil darstellt, ließe sich der Vorgang als eine Art Komplementablenkung erklären, bei der das zur Bakteriolyse nötige Komplement für die Entgiftung nicht zur Verwertung kommen kann.

- 7) 0,1 g Zellen + 0,3 ccm Vibrionen + 0,1 ccm Serum III $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann + 0,012 ccm Wiener Immunserum in 1,5 ccm.
- 8) 0,1 g Zellen + 0,3 ccm Vibrionen $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann + 0,01 ccm Serum III + 0,012 ccm Wiener Immunserum in 1,5 ccm NaCl.
- 9) 0,1 g Zellen + 0,3 ccm Vibrionen $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann + 0,1 ccm Serum III + 0,012 ccm Wiener Immunserum in 1,5 ccm NaCl.
- 10) 0,1 g Zellen + 0,3 ccm Vibrionen $\frac{1}{2}$ Stunde 37°, dann + 0,2 ccm Serum III + 0,012 ccm Wiener Immunserum in 1,5 ccm NaCl.

Meerschw. 624 mit Probe 1: 36,7, 33,4, 32,4°, Tod nach 23 Stunden, eitriges Exsudat, steril.

„ 625 mit Probe 2: 31,8, 28,4°, Tod nach 8 Stunden, zellarm, steril.

„ 626 mit Probe 3: 32,8, 26,6°, Tod nach 8 Stunden, zellarm, steril.

„ 627 mit Probe 4: 34,6, 29,8, 26,4°, Tod nach 9 Stunden, zellarm, steril.

„ 628 mit Probe 5: 36,5, 35,1, 36,7°, ohne Krankheit.

„ 629 mit Probe 6: 36,8, 34,0, 35,2°, ohne besondere Krankheit.

„ 630 mit Probe 7: 36,4, 35,0, 36,2°, ohne Krankheit.

„ 631 mit Probe 8: 35,6, 28,6, 26,8°, Tod nach 9 Stunden, zellarm, steril.

„ 632 mit Probe 9: 34,1, 29,3, 28,4°, Tod nach 9 $\frac{1}{2}$ Stunden, zellarm, steril.

„ 633 mit Probe 10: 34,3, 29,5, 30,1°, Tod nach 12–18 Stunden mäßige Zellzahl, steril.

Die Wärmemessungen sind diesmal in 3-stündigen Zwischenräumen vorgenommen.

Die Entgiftung, welche die mit bakterizidem Immunserum sensibilisierten Vibrionen durch Zellen erfahren haben, ist für Meerschw. 624 diesmal zwar deutlichst zu erkennen, aber ausnahmsweise keine vollständige gewesen; um so schöner tritt hervor, wie bei den Tieren 628–630 das antitoxische Serum III schon in geringen Mengen den schädlichen Einfluß der vorhergehenden Vibrionenbehandlung derart aufzuheben vermag, daß die Entgiftung dadurch bis zum Verschwinden der Wärmesenkung gesteigert erscheint. Die Tiere 625–627 zeigen an der rapid einsetzenden Vergiftung den Einfluß der vorhergehenden Vibrionenbehandlung der Zellen, der schon mit 0,05 ccm Aufschwemmung aufs deutlichste zu erkennen ist. Die Tiere 631–633 beweisen, daß die Entgiftung der Zellen, wenn sie einmal durch Vibrionenbehandlung zerstört ist, selbst durch große Gaben antitoxischen Serums nicht mehr wiederhergestellt werden kann. Das Serum III selbst ist gegen das Gift der Vibrionen ohne Wirkung; nur bei Meerschw. 633 sieht man jene Spur der Beeinflussung des Leibesgiftes, welche großen Mengen dieses Serums zukommt.

Wenngleich so manche Teile der Versuche noch einer weiteren Prüfung und Ausgestaltung bedurft hätten, so war dies leider nicht möglich, da Versuchstiere nicht mehr zu beschaffen waren; da dieser Mangel schwerlich so bald zu beseitigen sein wird, erscheint die Mitteilung der bisher erhaltenen Ergebnisse gerechtfertigt, um einen Einblick in die natürlichen Giftverteidigungsmittel des Tierkörpers zu gewähren. Dabei fällt auf den ersten Blick auf, daß diese Mittel die gleichen sind, wie sie dem Tiere zur Abwehr der Infektion, d. h. der lebenden Halbparasiten zur Verfügung stehen, und daß auch der Mechanismus, nach dem sie wirken, in allen wesentlichen Punkten der gleiche zu sein scheint. Daß in der letzteren Hinsicht noch nicht die vollste experimentelle Sicherheit geschaffen werden konnte, ist die eine der bedauerlichen Lücken, mit der die Versuche aufgeschoben werden müssen.

Es ist aber zweifellos sichergestellt, daß nur das aktive Serum Vibrionenleiber zu entgiften vermag, daß also der Komplementfunktion desselben ein Hauptanteil zukommt. Ob das die gleiche Funktion ist, welche auch die Bakteriolyse besorgt, ist möglich, aber nicht streng bewiesen. Da nun nach hundertfältigen Erfahrungen ein Komplement nicht ohne einen eigenen Immunkörper, also ohne eine entsprechende wärmebeständige Serumfunktion zu wirken vermag, so ist die Forderung eines solchen eine zwingende. Den Nachweis für den zusammengesetzten Charakter der Serumentgiftung durch Ergänzung inaktivierten Serums mit aller Sicherheit zu führen, ist ebenfalls noch nicht gelungen, obwohl gewisse Versuche sich kaum anders deuten lassen. Erst wenn die zum Ziele führende Technik genau ausgemittelt sein wird, wird sich der mit Bestimmtheit zu fordernde Entgiftungsimmunkörper näher charakterisieren lassen. Nur so viel läßt sich mit Wahrscheinlichkeit sagen, daß er mit dem bakteriolytischen nicht vollkommen übereinstimmen dürfte. Dafür spricht vor allem der Umstand, daß die immunisatorisch erzeugten Bakteriolytine, welche sonst die normalen bakteriziden Immunkörper so vorteilhaft ersetzen können, für die Entgiftung nur von mittelbarer Bedeutung sind.

Etwas ausgedehnter sind die Ergebnisse bezüglich der Vibrionenentgiftung durch normale Zellen. Zunächst ist durch

den unmittelbaren Versuch sichergestellt, daß sie selbst sich hauptsächlich an jener Entgiftungsfähigkeit beteiligen müssen, die der entzündeten Bauchhöhle zukommt, daß somit der Giftschutz, den eine vorhergehende beliebige Vorbehandlung der Bauchhöhle des Meerschweinchens hinterläßt, nicht allein auf vermehrten Komplementzufluß zurückgeführt werden kann. Eigene Versuche, wie insbesondere auch die von E. Weil, haben stets zu dem Ergebnis geführt, daß sich mit den üblichen Methoden (Hämo- und Bakteriolyse) der Nachweis einer Komplementvermehrung im gebildeten Exsudate nicht führen läßt, weit eher das Gegenteil. Tritt aber Komplementvermehrung doch ein, so ist sie gewiß ebenfalls für die Entgiftung, die als zusammengesetzter Vorgang des Komplements bedarf, von Vorteil. Auch die Entgiftung durch Zellen stellt eine hin-fällige Eigenschaft derselben dar; sie wird durch Erwärmen auf 56° und darunter zerstört, durch Einfrieren mindestens stark geschädigt, läßt sich aber dann durch an sich zur Entgiftung unzureichende Mengen aktiven Serums wiederherstellen. Daß diese Ergänzung mitunter nur teilweise gelingt, liegt in der Schwierigkeit der Versuche begründet, zweifelhaft ist die Tatsache nicht mehr. Für die Leukocytenentgiftung ist somit ihr zusammengesetzter Mechanismus erwiesen; sie bedarf eines hitzebeständigen und eines Komplementanteils, von denen der letztere auch im aktiven Serum enthalten ist. Zellen und Serum wirken somit den Grundzügen nach in gleicher Weise und jede im normalen Körper erfolgende Halbparasitenentgiftung ist in ihrem Mechanismus der normalen Bakteriolyse, nicht aber der normalen Entgiftung echter Toxine vergleichbar, die z. B. für das normale Diphtherieantitoxin im Menschenblute, übereinstimmend mit der Wirkungsweise des künstlichen Antitoxins, ein einfacher Vorgang ist.

In diesem Sinne bedeuten die Ergebnisse eine Bestätigung der einerseits von Friedberger, andererseits von Pfeiffer und Bessau geäußerten Anschauungen über die Möglichkeit der Leibesgiftbeseitigung. Ohne behaupten zu können, daß Bakteriolyse in erweitertem Ausmaße gleichbedeutend mit Entgiftung sei, stimmen beide doch in wesentlichen Punkten überein.

Daß weiter die Anschauungen von Friedberger über einen Zusammenhang zwischen Endotoxin- und Anaphylatoxin-

wirkungen einen ganz unerwarteten und deshalb um so wertvolleren experimentellen Stützpunkt gewonnen haben, ist bereits oben gewürdigt worden. Hält man sich das daselbst erwähnte Schema Friedbergers vor Augen, so erscheint das Leibesgift von Bakterien als ein antigener Körper von bestimmter Giftigkeit, der vermittels einer durch einen Antikörper mitbewirkten Veränderung entweder ungiftig wird (Entgiftung), oder derart an Giftigkeit zunimmt, daß er nun akuten Tod im Shock hervorruft (Anaphylatoxin). Welche Immunkörper dabei im Spiele sind, ist nach dem vorliegenden Ergebnis nicht zu sagen und das, sowie die Unmöglichkeit, dem ganzen reizvollen Thema weiter nachzugehen, die Bedingungen zu ermitteln, unter denen einmal Anaphylatoxin gebildet wird, das andere Mal Entgiftung eintritt, bildet eine weitere, schmerzlich empfundene Lücke der Arbeit. Jedenfalls ist aber eine experimentelle Grundlage dafür erhalten, Leibesgift und Anaphylatoxin in einer von Friedberger scharfsinnig vorhergesehenen Weise in Zusammenhang zu bringen; weiter ist bewiesen, daß sich das, was man mit einem orientierenden Ausdrucke Anaphylatoxin nennt, im Tierkörper nicht nur bilden, sondern im gleichen Organismus auch zur Wirkung kommen kann, und das unter Bedingungen, die denen eines gewöhnlichen, beim Arbeiten mit Halbparasiten durchaus üblichen Versuches entsprechen.

Noch in einer zweiten Hinsicht besteht Uebereinstimmung zwischen den bei der Halbparasiteninfektion und der Halbparasitenvergiftung zu beobachtenden Erscheinungen. Der Bacillus ist gegen die ihm feindlichen Körperkräfte, Zellen und Serum nicht wehrlos. Schon vor Jahren wurde gezeigt, daß Halbparasiten, sobald sie in genügender Menge Meerschweinchen eingespritzt werden, durch Ausscheidung eigener, als Aggressive bezeichneter Stoffe sich ihre Vermehrung im Tierkörper ermöglichen. Diese finden sich im Exsudate der gestorbenen Tiere und verhindern, mit einer an sich untödlichen Menge von Bakterien eingespritzt, die Tätigkeit der Körperschutzkräfte, wodurch die sonst unmögliche Ansiedlung und Vermehrung ermöglicht wird. Dabei beobachtet man, daß Leukocyten, die sonst der Menge der Bacillen nach reichlich in die Bauchhöhle übertreten müßten, und die bei Kontrolltieren auch wirklich zuströmen, abgehalten werden. Während Verf. auf dieses Moment

der Abhaltung des Zellschutzes das Hauptgewicht legte, wurde von seiten Wassermanns und Kruses, sowie deren Schulen eine andere Seite der Wirkung der Aggressine vorwiegend betont, nämlich ihre antibakterizide Wirksamkeit. Sie tritt dem Serum gegenüber hervor und kommt außer den Exsudaten infizierter Tiere auch noch Auszügen der Bakterienleiber zu, die sich auf verschiedene Art gewinnen lassen. Von Doerr wieder wurde insbesondere auf die Giftigkeit aufmerksam gemacht, welche derartigen Flüssigkeiten zukommen müsse und welche eine Infektionserleichterung zu erklären imstande sei.

Es dürfte heute nutzlos sein, auf die darüber entstandene Polemik erneut einzugehen, da sie wohl zum größten Teile durch eine von allen Seiten her fehlerhafte Verallgemeinerung und Uebertragung von Befunden an gewissen Bakterien auf alle krankheitserregenden Bakterien veranlaßt wurde. Während Verf., Weil u. a. ihre Untersuchungen zunächst an reinen Parasiten anstellten, für welche das Moment der Giftigkeit, wie das der Bakteriolysehemmung wegfällt, und die gewonnenen Ergebnisse auf die Infektion bei Halbparasiten übertrugen, gingen andere von den Verhältnissen bei Halbparasiten aus, die sich wieder nicht ohne weiteres auf die reinen Parasiten übertragen lassen. Der Streit mußte gegenstandslos werden mit der Erkenntnis, daß für jede Gruppe von Infektionen (Nekroparasiten, Halbparasiten, reine Parasiten) nur die allerallgemeinsten Grundzüge gemeinsam sind, während sonst für jede besondere Gesetzmäßigkeiten zu erforschen bleiben.

Für die Infektion mit Halbparasiten ist aber die Bedeutung der Zellen nicht allein, sondern auch die des Serums von Wichtigkeit und das natürliche Aggressin (Exsudat infizierter Tiere), wie das künstliche (Bakterienauszüge) wenden sich gegen beide Seiten des Infektionsschutzes des Organismus. Für das Zustandekommen der sich der Infektion anschließenden Infektionskrankheit aber spielt die Giftigkeit der Halbparasiten eine große Rolle und im Zusammenhange damit die Lähmung aller Einrichtungen, über die der Tierkörper von Natur aus zur Entgiftung verfügt. Stehen diese, wie es nunmehr sehr wahrscheinlich geworden ist, in einer gewissen, vielleicht engen Verbindung mit jenen, welche auch dem Infektionsschutze dienen (also antibakterielle Fähigkeiten von

Serum und Zellen), so müssen sich die aggressiven Äußerungen der Bakterien sowohl gegen den Schutz gegen die Infektion als den gegen Infektionskrankheit richten.

Tatsächlich hat sich nun, besonders für die Entgiftung durch Zellen, zeigen lassen, daß sie durch Bakterien beeinflußt werden kann; dies geschieht einerseits durch die lebenden Bakterien selbst, bei etwa $\frac{1}{2}$ -stündiger Berührung, andererseits durch Exsudate infizierter Tiere, wie auch durch Auszüge aus Bakterienleibern. Man kann um so eher annehmen, daß alle diese drei Mittel auf die gleiche Weise wirksam sein werden, als die Art, wie ihre Wirkung zu beeinflussen ist, die gleiche bleibt. Die lebenden Bakterien, welche mit Zellen in Berührung gebracht werden, scheiden in dieser Zeit Stoffe aus, wie sie sich auch mit allen ihren nachweisbaren Eigenschaften in natürlichen und künstlichen Aggressinen finden und die überdies den Charakter des Vibrionenlösungsgiftes tragen. Für den *Vibrio Kadikjöji* trifft also in Wirklichkeit eine enge Beziehung zwischen Gift und Aggressin zu, ebenso wie die Möglichkeit, in wässerigen Auszügen Aggressinwirkung nachzuweisen, auf die Beziehungen zu Bakterienleibsstoffen hinweist.

Die Verhältnisse liegen also derart, daß der *Vibrio* einen gewissen Anteil seiner Leibessubstanz sehr leicht freiwillig, sowohl im Tierversuche, als auch nach den Versuchen insbesondere von R. Kraus, in Zuchten auf Fleischbrühe abgibt, den gleichen Anteil, der auch mit Wasser künstlich den Vibrionen entzogen werden kann. Er hat als Lösungsgift den Charakter eines Toxins, das aber gleichzeitig durch seine Fähigkeit, Leukocyten fernzuhalten und schon vorhandene in der Entfaltung ihrer keimfeindlichen und giftwidrigen Wirkung zu hindern, die Eigenschaften eines Aggressins besitzt. Dabei bleibt unentschieden, ob diese beiden Seiten der Wirkung einem und demselben eigentlich wirksamen Agens zukommen, oder ob zwei verschiedene Stoffe (Aggressin und Toxin) nur wegen gleicher Löslichkeit immer zusammen abgegeben, bzw. ausgezogen werden. Auch wenn ein derartiges Produkt nicht giftig wäre oder seiner primären Giftigkeit beraubt werden könnte, müßte es eben durch Fernhaltung oder Lähmung von Leukocyten, sie unfähig machen, jetzt ihre Wirkung gegen den anderen, schwer löslichen, schwer nach außen abgebbaren Teil des Vibrionenleibes, gegen das Endotoxin

oder Leibesgift, zu entfalten. Vermöge seiner verhältnismäßigen Schwerlöslichkeit kann dasselbe nur dann tödlich wirken, wenn es in größerer Menge in den Tierkörper eingeführt wird oder wenn es sich daselbst durch Vibrionenvermehrung reichlicher zu bilden vermag. Normal hat der Organismus dagegen in seinem Serum und seinen Zellen sehr wirksame Mittel, einerseits zur Verhinderung der Vermehrung lebender Vibrionen, womit die Bildung neuen Leibesgiftes verknüpft ist, andererseits zur Entgiftung des fertig gebildeten. Verfügt aber der Vibrio über die Fähigkeit der Aggressinbildung, die im Falle des *V. Kadikjōi* mit der des Lösungsgiftes zusammentrifft, so erfolgt sowohl Zellabhaltung als auch Erschwerung oder Verhinderung der etwa möglichen Entgiftung, womit sowohl die Vermehrung der Vibrionen als das Eintreten der tödlichen Vergiftung erleichtert wird. Dabei ist die selbständige Giftwirkung des Lösungsgiftes außer Betracht gelassen, da sie jederzeit durch antitoxisches Serum beseitigt werden kann. Werden lebende Vibrionen eingespritzt, aber durch Beigabe von bakterizidem Immunserum an jeder Vermehrung gehindert, so hört die Abgabe von Lösungsgift und Aggressin sofort auf, das eingespritzte Leibesgift wird durch die nicht mehr abgehaltenen Zellen beseitigt, und es kommt nur darauf an, ob die Menge der eingeführten Vibrionen nicht zu groß ist, als daß sie entgiftet werden könnte. Steigert man die natürlichen Entgiftungsmittel durch eine vorhergehende Entzündung der Bauchhöhle, so werden auch sehr große Bakterienmengen schadlos vertragen.

Von großem Interesse ist die Frage, wie das Leibesgift eigentlich wirkt. Im Grunde genommen hat man keinerlei Vorstellung darüber, ob es primär giftig ist oder ob es nicht erst im Körper durch dessen natürliche Auflösungskräfte giftig wird. Es ist mindestens derzeit nicht zu widerlegen, daß die Vibrionensubstanz an sich ebenso unschädlich ist, wie etwa normales Pferdeserum, aber erst durch Eingreifen derjenigen Körperfunktionen, die auf Immunkörper-Komplement zurückgehen, giftig wird¹⁾. Die Endo-

1) S. die Zunahme der „Endotoxinwirkung“ nach Vorbehandlung von Tieren mit *Vibrio Metschnikoff* bei Friedberger und Mita (diese Zeitschr., Bd. 10, p. 465 ff.), ferner die daselbst befindlichen Bemerkungen über Tuberkulose (p. 477 und Sitzung des Dresdener Mikrobiologentages 1911). Ferner Friedberger, Deutsche med. Wochenschr., 1916, No. 1.

toxinvergiftung wäre dann nichts als eine schlecht ausgebildete Anaphylatoxinwirkung, die aber gelegentlich, unter noch nicht genau bekannten Umständen zur vollen Ausbildung kommt und dann einen Shock hervorruft, wie er in den vorerwähnten Versuchen unter bisher nicht bekannter Heftigkeit beschrieben wurde.

Diese im wesentlichen ganz und gar mit den durch Friedberger entwickelten Anschauungen übereinstimmende Vermutung hat keineswegs nur den Wert einer theoretischen Erörterung, da sie sofort praktische Folgen nach sich zieht. Denn trifft sie zu, so ist natürlich das Suchen nach Anti-endotoxin zum Scheitern verurteilt und erklärt, warum auch die natürlichste Immunisierung, die mit dem unveränderten Antigenen zu keinem Gegengift führt. Es gelingt ja doch ab und zu, einem Tiere im Laufe vorsichtiger Behandlung Vibrionen in großer Menge, auch solche, die direkt dem Tiere entstammen, beizubringen. Außer der aktiven Immunität einigen Grades, die man so, allerdings auch nur um den Preis von Opfern, erzielt, erreicht man aber nichts, niemals ein Serum, von dem man nur einigermaßen sicher eine Gegenwirkung gegen das Leibesgift sehen würde. Auf dem Wege der außerhalb des Tieres mit normalen Zellen durchgeführten Entgiftung ist es möglich, recht große Vibrionenmengen einzuführen, aber auch das führt nicht zu einem Ergebnis, so daß die Aufzählung der damit angestellten Versuche nichts als eine Beschreibung zahlreicher, nutzloser Tieropfer sein würde. Daher kommt es, daß Verf. weitere Versuche, doch zu einer Leibesgiftimmunität mit Vibrionen als Antigen zu kommen, zwar noch nicht als ganz aussichtslos aufgeben möchte, aber keine großen Hoffnungen auf sie mehr zu setzen vermag: die im Tierkörper als Leibesgift wirksame Substanz dürfte schwerlich das zum Ziele führende Antigen, welches vielmehr erst aus ihr hergestellt werden muß, abgeben können.

So bleibt nur eine kurze Besprechung der Mittel übrig, welche die Immunitätsforschung gegenwärtig hat, um der Halbparasiteninfektion und der sich anschließenden Vergiftung zu begegnen. Es sind ihrer zwei, die alle nur sehr mittelbar das Leibesgift berühren, aber dafür sorgen können, daß die natürlichen Entgiftungsmittel nicht in ihrer Wirkung behindert werden.

Das bakterizide Immunserum verhindert durch Aufhebung der Lebenstätigkeit der Vibrionen jede Neuerzeugung, sowohl von Aggressin, als von Lösungs- und Leibesgift, ermöglicht somit die Entgiftung durch die normalen Mittel, soweit diese nicht durch zu große Mengen der eingeführten Bakterien übermäßig in Anspruch genommen sind. An sich ist es gegen alle diese fertig erzeugten Bakterienprodukte machtlos; ob ihm nicht unter bestimmten Umständen ein verhängnisvoller Einfluß im Sinne einer Umwandlung der Leibessubstanz zu akut tödlichem Anaphylatoxin im Sinne obiger Ausführungen zukommt, ist derzeit noch nicht zu entscheiden. Die Giftbeseitigung durch Abbau zu ungiftigen Spaltabkömmlingen, die Friedberger wie Pfeiffer und Bessau betonen, ist sehr wohl denkbar, wird aber durch die in gewöhnlicher Weise bisher gewonnenen Seren nicht geleistet.

Antitoxische Seren lassen sich unter der Voraussetzung, daß man über einen Stamm verfügt, der Lösungsgift bildet, verhältnismäßig leicht darstellen. Sie beseitigen das Lösungsgift, das in hohem Maße in Bakterienauszügen, in viel geringerer Menge in Exsudaten infizierter Tiere vorhanden ist, glatt nach den Gesetzen echt antitoxischer Seren, sind aber gegen das Leibesgift vollkommen machtlos. Eine gewisse Wirkung, die sie scheinbar auf dasselbe ausüben, ist ebenfalls nur eine mittelbare und wird dadurch bedingt, daß alle Flüssigkeiten, die Lösungsgift enthalten, gleichzeitig aggressiv sind, sei es, daß Lösungsgift und Aggressin dasselbe sind oder beide nur immer nebeneinander gebildet werden. Aggressin erzeugt aber Antiaggressin und dieses neutralisiert sofort das Aggressin, das von lebenden Vibrionen gebildet wird oder von diesen erzeugt in irgendeiner Form vorliegt. Dadurch wird wieder die Möglichkeit der Entgiftung durch die normalen Körpermittel gewahrt; der Unterschied gegen die entsprechende Leistung des bakteriziden Serums liegt darin, daß dieses nur die Abgabe von Aggressin seitens lebender Bakterien verhindern kann, gegen die bereits frei gewordenen aber machtlos ist, während antiaggressives (antitoxisches) Serum in beiden Fällen wirkt.

Das sind die Ergebnisse der bisherigen Forschung, eine wirkliche Entgiftung der Bakteriensubstanz durch ein künstlich gewonnenes Immunserum ist bisher nicht gelungen.

Nur in Kürze und anhangsweise sei auf Verhältnisse bei anderen Halbparasiten hingewiesen, soweit in diese ein gewisser Einblick gewonnen werden konnte. Notwendig war es, diesen zu gewinnen, weil nicht zu verkennen ist, daß Stämme wie *Vibrio Kadikjöji* oder El-Tor nicht die normalen Vertreter halbparasitischer Bakterien genannt werden können. Ihre ungewöhnlich hoch zu steigernde Infektiosität, die schließlich dazu führt, daß sie rein septikämisch werden und auch bei subkutaner Verimpfung sehr kleiner Mengen haften können, beweist dies ebenso wie ihre Giftbildung, die der ungeheuren Mehrheit der Halbparasiten abgeht.

Versuche wurden mit einem aus dem Blut eines typhuskranken Kindes gezüchteten *Typhusbacillus* gemacht, dessen Infektiosität durch einige Tierimpfungen auf etwa $\frac{1}{10}$ Oese gestiegen war. Es zeigte sich, daß derselbe praktisch nicht nennenswert Gift zu produzieren vermochte, da sowohl Bouillonzuchten verschiedenen Alters, als Exsudate infizierter Tiere mit 2 bis 4 ccm von kleinen Meerschweinchen ohne Schaden vertragen wurden. Seine Giftigkeit bei Einspritzung lebender Bacillen mit Immnserum betrug für Tiere von 200 g etwa 0,35 ccm der Aufschwemmung einer Agarzucht in 1 ccm NaCl-Lösung. Sie war für den nicht durch Tiere gegangenen Ausgangsstamm und den nach mehreren Tierimpfungen in seiner Infektiosität erhöhten Stamm ziemlich gleich. Zu Entgiftungsversuchen wurden immer 0,5 ccm Aufschwemmung = $\frac{1}{2}$ Agarkultur verwendet. Es stellte sich heraus, daß das Typhusleibesgift gerade so wie das des *Kadikjöjivibrio* durch aktives Serum und Leukocyten vom Meerschweinchen beseitigt wurde, nur ungleich stärker und besser. 0,02 g Leukocyten, oft auch 0,01 g reichten aus, um nach Impfung mit 0,5 ccm Typhusaufschwemmung selbst Wärmesenkungen vermeiden zu lassen. Die Aggressinwirkung des Stammes war, wie zu erwarten gewesen, sehr gering und nur die kleinste entgiftende Zellenmenge wurde durch vorherige Berührung mit den lebenden Bacillen derart verändert, daß das dann geimpfte Tier mindestens starke Wärmesenkungen und objektive Krankheitssymptome zeigte. Dabei erwies sich der in seiner Infektiosität durch Tierpassagen erhöhte Stamm als viel wirkungsvoller, als der Ausgangsstamm. Sobald die Möglichkeit weiterer Untersuchungen vorliegt, sollen sie wieder aufgenommen werden.

Zusammenfassung.

Die Herstellung antitoxischer Seren bei gewissen giftbildenden Stämmen von halbparasitischen Bakterien (*Vibrio Kadikjöji*) gelingt zwar verhältnismäßig leicht, sie vermögen aber nur gegen das diesen Stämmen eigentümliche Lösungsgift, nicht gegen deren Leibesgift (Endotoxin) zu schützen.

Hingegen hat der normale Organismus des Meerschweinchen in seinem Serum, sowie den Leukocyten Mittel, das Leibesgift unschädlich zu machen.

Die Entgiftung findet seitens von Serum wie Zellen schon

außerhalb des Tierkörpers im Glasversuche bei 37° statt; sie gehorcht dem Gesetze vom Vielfachen.

Die entgiftende Zellwirkung kann durch Erhitzen der Zellen auf 48—56° zerstört werden und wird auch durch Gefrierenlassen der Leukocyten mindestens sehr schwer geschädigt.

Auf diese Weise unwirksam gewordene Zellen lassen sich für die Entgiftung von Vibrionenleibern durch Zusatz aktiven Meerschweinchenserums wieder ergänzen. Die Entgiftung ist daher ein zusammengesetzter Vorgang, an dem sich ein hinfälliger Anteil und ein wärmebeständiger beteiligen; der erstere kommt den unveränderten Zellen, wie dem aktiven Normalserum zu.

Wahrscheinlich ist auch die entgiftende Wirkung des Normalserums in ähnlicher Weise zusammengesetzt; der Nachweis dafür ist schwer zu führen.

Antitoxisches Serum (gewonnen durch Behandlung von Tieren mit Kadikjöji-Lösungsgift) vermag zwar an sich wenig gegen Leibesgift auszurichten, unterstützt aber die entgiftende Zellwirkung in hohem Grade.

Auch bakterizides Immunserum hat auf sie einen Einfluß. Läßt man nämlich lebende Vibrionen isoliert auf Zellen kurze Zeit bei 37° einwirken, so geht ihr Entgiftungsvermögen verloren, und zwar, wie sich durch Ergänzungsversuche zeigen läßt, durch Zerstörung des hinfälligen Anteils der Entgiftung. Bei Zusatz von bakterizidem Immunserum (oder auch antitoxischem Serum) zur Zellenvibrionenmischung hört diese verderbliche Wirkung der Vibrionen auf.

Sie wird erklärt durch die Erscheinung, daß auch Exsudate natürlich infizierter Tiere, ebenso auch wässerige Auszüge aus Vibrionenleibern (Lösungsgift) die Fähigkeit haben, das Entgiftungsvermögen der Leukocyten aufzuheben.

Daraus muß der Schluß gezogen werden, daß Vibrionen im Leben Stoffe ausscheiden und als leicht lösliche Bestandteile in ihrem Körper bilden, welche auf die Leukocyten im Sinne einer Zerstörung des hinfälligen Anteils ihres Entgiftungsvermögens hinwirken. Diese Vibrionenstoffe können mit den Angriffsstoffen (Aggressinen), durch welche sich die Vibrionen die Wachstumsmöglichkeit im Tierkörper schaffen, also die Infektion bewerkstelligen, in Beziehung gebracht werden.

Das antitoxische, in diesem Sinne gleichzeitig antiaggressive Serum hebt die Wirkung derselben auf, sowohl wenn es sich um die Stoffe selbst handelt, als wenn die entsprechende Ausscheidung durch lebende Vibrionen in Frage kommt.

Die Schutzwirkung des bakteriziden Serums für die Zellentgiftung tritt nur bei Anwendung lebender Vibrionen hervor und richtet sich nicht wesentlich gegen die aggressiven Produkte derselben. Sie erklärt sich durch Hemmung der Vibrionenvitalität, womit die Verhinderung der Aggressinausscheidung verbunden ist.

Im Verlaufe der Versuche trat vielmals die Erscheinung auf, daß Tiere nach Einspritzung von Vibrionen in die Bauchhöhle mit allen Zeichen des anaphylaktischen Shocks reagierten und zugrunde gingen, was nicht anders als durch Anaphylatoxinbildung zu erklären ist. Die genaueren Bedingungen, unter denen dies eintritt, sind noch nicht ermittelt, doch bildet diese Beobachtung eine sehr wertvolle Stütze des Zusammenhanges zwischen Anaphylatoxin und Infektionskrankheit im Sinne der von Friedberger entwickelten Anschauungen.

Eine auf die verschiedenste Art auf Grund der gewonnenen Erfahrungen versuchte Darstellung von Immunität und Serum gegen das Leibesgift des *Vibrio Kadikjöji* hat zu keinem Erfolge geführt; es besteht Grund zu der Vermutung, daß sie überhaupt unmöglich sein dürfte.

Das erklärt sich leicht, wenn die andere, aus den Versuchen abgeleitete Anschauung zutrifft, daß es ein Bakterienendotoxin als Gift *sui generis* überhaupt nicht gibt. Die auf ein Endotoxin bezogene Vergiftung von Tieren beruht danach darauf, daß sich aus dem an sich unschuldigen Leibesstoff der Bakterien durch Wirkung normaler Serum- (und vielleicht auch Zell)funktionen erst das Gift als eine Art Anaphylatoxin bildet und infolge Lähmung jener Körperkräfte, die es sonst beseitigen würden, zur Wirkung gelangt, die sich gelegentlich, unter erst zu erforschenden Bedingungen, bis zum akuten Shock steigern kann. Auf diese Weise würde auch die sonst schwer begreifliche klinische Unspezifität der verschiedensten Endotoxine erklärt werden. (G. C.)

Nachdruck verboten.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung des Pathologischen Instituts
der Universität Berlin.]

Ueber die experimentelle Chemotherapie des Gasbrandes.

Von Dr. **Richard Bieling**, Assistenzarzt d. R.

Mit 1 Kurve im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 1. August 1917.)

Im folgenden soll ausführlich über Versuche zur experimentellen Chemotherapie der Gasbrandinfektion berichtet werden, deren Ergebnisse zum Teil bereits in kurzer Form von Morgenroth und Bieling¹⁾ mitgeteilt worden sind.

Systematischen Versuchen, die sich, entsprechend den früher im hiesigen Institut durchgeführten Versuchsreihen an Trypanosomen und an Pneumokokken²⁾, auf eine sehr große Zahl der verschiedensten Derivate der Chiningruppe erstreckten, war naturgemäß bei den Gasbrandstudien eine bestimmte Grenze gesetzt. Kam es doch zunächst vor allem darauf an, die im Laufe der Jahre gewonnene Kenntnis der biologisch-therapeutischen Eigenschaften der Chinaalkaloide in der denkbar ökonomischsten Weise der neuen Aufgabe nutzbar zu machen. Die Versuche von Morgenroth und Tugendreich³⁾, sowie gleichzeitig mit unseren Gasbrandversuchen von Morgenroth und Bumke durchgeführte Reagenzglasversuche an Staphylokokken und Streptokokken konnten nun hier als Wegweiser dienen und versetzten uns in die Lage, diejenigen Verbindungen für die Gasbrandversuche auszuwählen, die nach den Erfahrungen bei Staphylokokken und Streptokokken sich als bis auf weiteres optimale Mittel der Wunddesinfektion kennzeichnen ließen.

1) Morgenroth und Bieling, Berl. klin. Wochenschr., 1917, No. 30; s. auch Bieling, ebenda, 1917, No. 51.

2) S. die zusammenfassende Darstellung von Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr., 1917, No. 3.

3) Morgenroth und Tugendreich, Berl. klin. Wochenschr., 1916, No. 29; Biochem. Zeitschr., Bd. 79, 1917, p. 257.

Dieser Anschluß der Gasbrandversuche an die Versuche mit den beiden Eitererregern hatte zur Voraussetzung die hypothetische Annahme, daß für beide Reihen ein gewisser Parallelismus der Eigenschaften bestehe. Es darf aber nicht verkannt werden, daß diese Annahme durchaus nur als ein vorläufiges heuristisches Prinzip betrachtet werden mußte, und das Folgende zeigt auch, daß ein strenger Parallelismus auf keinen Fall Geltung hat. Immerhin dürfen wir nach unseren gesamten Erfahrungen annehmen, daß es zunächst berechtigt erscheint, Verbindungen, die sich gegenüber den Eitererregern als minderwertig erweisen, bezüglich der Gasbrandversuche auszuschalten oder wenigstens bis auf weiteres zurückzustellen.

Uebrigens waren es auch praktische Erwägungen, wie sie schon im Hinblick auf die zukünftigen Aufgaben der Wunddesinfektion im Felde angestellt werden mußten, die uns veranlaßten, bei der Auswahl der zu untersuchenden Verbindungen eine möglichst starke Wirkung gegenüber den dominierenden Erregern der Wundinfektion, den Streptokokken und Staphylokokken, vorauszusetzen. Denn erstlich besteht wohl kein Zweifel, daß die Entwicklung der anaëroben Wundinfektion — dies gilt für Gasbrand wie für Tetanus — in hohem Maße von der Entwicklung der aëroben Eitererreger abhängig sein kann. Weiterhin wäre es natürlich für den praktischen Gebrauch in hohem Maße wünschenswert, wenn es gelänge, mit einem einzigen Präparat beider Infektionen, der aëroben sowohl wie der anaëroben, Herr zu werden.

Daß vom Chinin und dem Aethylhydrocuprein (Optochin) eine nennenswerte Wirkung im Gasbrandversuch nicht zu erwarten ist, darauf wiesen uns schon früher angestellte Reagenzglasversuche von Conradi und Bieling hin.

Wenn wir die Versuche von Morgenroth und Tugendreich an Streptokokken und Staphylokokken als Ausgang nehmen wollten, so waren zunächst die höheren Homologen der Hydrochininreihe, welche sich vom Hydrochinin durch die kohlenstoffreichere Seitenkette am Chinolinkern unterscheiden, ins Auge zu fassen. Es kann hinzugefügt werden, daß neuerdings im hiesigen Laboratorium ausgeführte Versuche von Morgenroth und Bumke, die an einer

großen Anzahl frisch von Kranken stammender Streptokokken- und Staphylokokkenstämme angestellt wurden, diese früheren Ergebnisse bestätigt haben.

Ueber die quantitativen Beziehungen der desinfizierenden Wirkung in der homologen Reihe der Hydrochininderivate, verglichen mit der Wirkung des Chinins, gibt am besten eine Tabelle nach den Versuchen von Morgenroth und Tugendreich (l. c.) Aufschluß. Es handelt sich um die Abtötung von Streptokokken nach 24-stündiger Einwirkung der betreffenden Verdünnungen, und zwar diente als Medium Ascitesbouillon, so daß dem Vorhandensein von Eiweißkörpern Rechnung getragen wurde. Folgende Verdünnungen bewirkten nach 24 Stunden bei 38° völlige Abtötung einer sehr reichlichen Einsaat von Streptokokken:

Chinin	1 : 4 000
Aethylhydrocuprein (Optochin)	1 : 8 000
Isoamylhydrocuprein (Eucupin)	1 : 20 000—40 000
Heptylhydrocuprein	1 : 20 000—40 000
Isoktylhydrocuprein (Vuzin)	1 : 80 000
Decylhydrocuprein	1 : 20 000
Dodecylhydrocuprein	1 : 10 000.

Das Optimum der Wirkung liegt also bei der Oktylverbindung (Vuzin), dieser schließt sich das Isoamylhydrocuprein (Eucupin) an, dessen Löslichkeitsverhältnisse die Handhabung leichter gestalten, als dies beim Oktylhydrocuprein der Fall ist.

Der Hauptbereich innerhalb der homologen Reihe war also für uns durch die Glieder mit 5 bis 10 Kohlenstoffatomen in der Seitenkette des Chinolinkerns gegeben.

Auf das gleiche Intervall innerhalb der homologen Reihe wiesen Versuche an Meningokokken¹⁾ hin, die im hiesigen Laboratorium ausgeführt wurden.

Hatten sich diese Erfahrungen ausschließlich auf pathogene Kokken beschränkt, so zeigten neuere Versuche, die Braun und Schäffer im Hygienischen Institut der Universität Frankfurt a. M. durchgeführt haben, daß die charakteristische Steigerung der Desinfektionswirkung in analoger Weise auch bei pathogenen Bacillen vorkommen kann²⁾.

1) Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr., 1916, No. 22, p. 604; s. auch Isaac, Münch. med. Wochenschr., 1917, No. 31.

2) Ueber Versuche mit analogen Ergebnissen habe ich neuerdings berichtet. S. Biochem. Zeitschr., Bd. 85, 1918, p. 189.

Schäffer¹⁾ stellte zunächst fest, daß der Diphtheriebacillus durch Optochin eine erhebliche Entwicklungshemmung erfährt; es waren noch Konzentrationen von 1:10 000 bis 1:20 000 wirksam. Nun steigt auch hier die entwicklungshemmende Wirkung in der homologen Reihe ganz bedeutend an, so daß dem Isoamylhydrocuprein (Eucupin) eine Wirkung zukommt, welche diejenige des Optochins um das 5- bis 10-fache übertrifft. Konzentrationen von 1:50 000 wirkten gegenüber sämtlichen untersuchten Stämmen des Diphtheriebacillus entwicklungshemmend, in vielen Fällen sogar noch Konzentrationen von 1:100 000. Bei kurzer Einwirkungsdauer wirkten Konzentrationen von 1:2000 bis 1:5000 abtötend, wobei die Desinfektionswirkung auch in Gegenwart menschlichen Serums stattfand. Braun und Schäffer²⁾ stellten weiterhin fest, daß das Maximum der Wirkung bei der Octylverbindung liegt, von welcher eine Konzentration 1:8000 in 10 Minuten Diphtheriebacillen abtöten kann. Versuche von Pfeiffer³⁾ und von Sommer⁴⁾ zeigten, daß diese starke Desinfektionswirkung auch zur Behandlung der Diphtheriebacillenträger und der Diphtheriekranken mit Erfolg verwendet werden kann.

Die nächstliegende Frage war angesichts des bisher vorliegenden, kurz geschilderten Tatsachenmaterials die, ob der Erreger des Gasbrandes ähnlichen Gesetzmäßigkeiten der Desinfektionswirkung unterworfen ist, wie die genannten Erreger, und ob seine absolute Empfindlichkeit gegenüber den in Frage stehenden Verbindungen ausgeprägt genug ist, um eine Anwendung im Tierversuch und zur Wunddesinfektion beim Menschen überhaupt einigermaßen aussichtsreich erscheinen zu lassen.

Hier mußte natürlich von Anfang an eine Frage berücksichtigt werden, die, seitdem der Gasbrand in den Vordergrund des praktischen Interesses getreten ist, Bakteriologen und Pathologen beschäftigt, zu zahlreichen Untersuchungen und Kontroversen Anlaß gegeben hat. Wir können auf letztere an dieser Stelle nicht eingehen und müssen auf das Studium der einschlägigen Literatur verweisen⁵⁾.

1) Schäffer, Berl. klin. Wochenschr., 1916, No. 38; ferner Braun, Münch. med. Wochenschr., 1917, No. 6, p. 188, und Fortschr. d. Med., 34. Jahrg., 1916/17, No. 7.

2) Braun und Schäffer, Berl. klin. Wochenschr., 1917, No. 37.

3) Pfeiffer, Münch. med. Wochenschr., 1917, No. 6, p. 187; Arch. f. Laryngolog. u. Rhinolog., Bd. 31, 1917, Heft 1.

4) Sommer, Berl. klin. Wochenschr., 1916, No. 43.

5) Zusammenfassende Darstellung mit Literatur bis Mitte 1916 bei E. Fraenkel in Weichardts Ergebnisse etc., Berlin 1917.

Während die Klinik des Gasbrandes und die pathologische Anatomie — wir schließen uns hier den Anschauungen Biers und Aschoffs an, welche letztere allerdings von E. Fraenkel (l. c.) bestritten werden — in keiner Weise dazu zwingt, die Einheitlichkeit des Erregers des Gasbrandes abzulehnen, haben sich aus den bakteriologischen Studien ungewöhnlich mannigfaltige morphologische und kulturelle Differenzen ergeben. Die einen sehen nun in diesem hohen Maße von Polymorphie den Ausdruck einer hauptsächlich von der Zusammensetzung des Nährbodens abhängigen biologischen Variabilität, welche der Annahme eines einheitlichen Erregers nicht entgegensteht, während die anderen, an den bisherigen Einteilungsprinzipien festhaltend, eine Anzahl scharf geschiedener Arten unterscheiden. Die erste Anschauung, die sich an länger zurückliegende Arbeiten von Graßberger und Schattenfroh über den Rauschbrandbacillus anlehnt, wird hauptsächlich von Conradi und Bieling, sowie von Fürth vertreten. Sie stützt sich neben den bakteriologischen Untersuchungen auch noch auf die pathologisch-anatomischen Befunde Aschoffs beim menschlichen Gasbrand, für den sie ein gesetzmäßiges Zusammenwirken der Gär- und Fäulnistypen als wesentlich ansieht. Die andere Anschauung wird von E. Fraenkel, von R. Pfeiffer, Selter und Wehl, sowie von Klose vertreten. Pfeiffer und Bessau¹⁾, welche eine neue Einteilung der Gasbrandbacillen anstreben, weisen ebenfalls auf die Zusammenarbeit der Fäulnis- und Nichtfäulniserreger beim Ablauf des menschlichen Gasbrandes hin und versprechen sich praktische Erfolge nur von einem Vorgehen, welches nicht streng auf eine Art beschränkt ist.

Wir konnten also bei unseren chemotherapeutischen Arbeiten einen völlig unbefangenen Standpunkt einnehmen und suchten vor allem der Lösung der vorliegenden therapeutischen Frage in der Weise näher zu kommen, daß unsere Ergebnisse nach Möglichkeit unabhängig von den schwebenden Streitfragen wurden. Es wäre auch, abgesehen von der den Autoren gemeinsamen Anschauung über die Wichtigkeit der verschiedenen Gasbrandbacillen-Typen für das Zustandekommen des klinischen Gasbrandes, eine unzulässige Einseitigkeit gewesen, wenn wir uns etwa auf die Untersuchung eines einzigen Typus eines bestimmten Gasbrandstammes beschränkt hätten. Zeigt doch schon das Verhalten der verschiedenen Typen und Stämme dem agglutinierenden Serum gegenüber, daß verschiedene Rezeptorenkomplexe bestehen. In ähnlicher Weise mußte natürlich bei dem Vordringen auf das völlig neue Gebiet der chemotherapeutischen

1) Pfeiffer und Bessau, Deutsche med. Wochenschr., 1917, No. 39 ff.

Bearbeitung des Gasbrandes mit ähnlichen, vielleicht noch weit ausgeprägteren Divergenzen der Chemozeptoren als möglich gerechnet werden. Praktisch war also unser Vorgehen von der Stellungnahme zu den bakteriologischen Streitfragen unabhängig, der Verlauf unserer Untersuchungen zeigte dann, daß wir mit der unitarischen Auffassung nirgends in Widerspruch gerieten, daß vielmehr die Gesamtheit unserer Versuche in chemotherapeutischer Hinsicht weitgehende Uebereinstimmung der verschiedenen Typen und Stämme ergab. Diese aber in möglichst vollständiger Auswahl zur Untersuchung heranzuziehen, war unter allen Umständen notwendig.

Zu den Versuchen standen uns 12 verschiedene Stämme zur Verfügung, die sich sämtlich für Meerschweinchen unter geeigneten Bedingungen als pathogen erwiesen. Herrn Prof. Dr. Conradi, sowie Herrn Geheimrat Prof. Dr. Haendel und Herrn Regierungsrat Dr. Ungermann vom Kaiserlichen Gesundheitsamt sind wir für Ueberlassung einer Anzahl Kulturen zu Dank verpflichtet.

Bezeichnung	Ursprungsort	Gezüchtet von:
No. 144 } No. 148 } A und B No. 150 }	Verdunfront Flandern	Conradi und Bieling Conradi
No. 6	Verdunfront	„ Armeepathologe O. St. A. Prof. Dr. Dietrich
No. 26 I	Westfront (Gegend Metz)	Kais. Ges.-Amt
No. 7 II	„ „ „	„ „
No. 38 I	„ „ „	„ „
Stamm Charité	Berlin	—
No. 26 III	Westfront (Gegend Metz)	Kais. Ges.-Amt
No. 152	Flandern	Conradi
No. 155	„	„
No. 126	„	Conradi und Bieling

Zu Beginn der Untersuchungen wurden die morphologischen und biologischen Eigenschaften der Kulturen bestimmt, und es ergab sich, daß wir sowohl Stämme in der vegetativen Gärform der unbeweglichen plumpen Stäbchen (Typus des Bacillus Welch-Fränkell) und in der sporogenen Fäulnisform der beweglichen Sporenstäbchen (Typus des Bacillus oedematis maligni Koch-Fränkell), sowie eine Reihe von Stämmen vor uns hatten, die bei der ersten Untersuchung keinem der Grenztypen zugeteilt werden konnten.

Stamm 144 A. Wächst in Traubenzuckeragar und Traubenzuckerbouillon sehr rasch unter stürmischer Gasbildung als unbewegliches, dickes, sporenfreies, grampositives Stäbchen und Doppelstäbchen, Hirnnährboden

wird auch bei 6-tägiger Bebrütung nicht geschwärzt; dies ändert sich auch nicht bei kontinuierlicher Weiterzüchtung auf Hirnnährböden, mit einer Ausnahme, welche zur Gewinnung des Stammes 144 B führte (s. unten).

Stamm 148 A und 150 A verhalten sich bei Züchtung auf Traubenzuckeragar und Traubenzuckerbouillon ebenso; auf diesem Nährboden wurden sie auch für unsere Versuche gezüchtet. Nach längerer und fortgesetzter Weiterzüchtung auf Hirnnährboden und im Tierkörper wurden jedoch schließlich auch bewegliche und sporenhaltige Stäbchen gesehen, welche nach 3 Minuten langem Abkochen die Stämme 148 B und 150 B ergaben. Hirnkulturen dieser beiden Stämme zeigten bereits nach eintägiger Bebrütung Fäulnisgeruch, doch blieb der Nährboden in den ersten 5 Tagen im Brutschrank weiß und wurde später langsam grauweiß.

Stamm 6 zeigt ebenfalls auf Traubenzuckerbouillon und -agar lebhaft Gasbildung und wächst als schlankes, manchmal etwas gebogenes Stäbchen. Die überwiegende Mehrzahl der Bacillen im hängenden Tropfen ist unbeweglich. Doch fanden sich stets einzelne, morphologisch nicht auffällige Exemplare mit einer lebhaften Drehung um sich selbst, ohne Vorwärtsbewegung. Hirnnährboden wurde sehr langsam und wenig intensiv geschwärzt. Auch hier war die Neigung zur Sporenbildung, die im Kohlehydratnährboden gänzlich fehlt, gering. Gramfärbung positiv, zum Teil nicht sehr deutlich.

Stamm 26 I wächst in Traubenzuckerbouillon und -agar wie Stamm 6. Auf Hirnnährboden nach 24 Stunden 37° reichlich Gas ohne Fäulnisgeruch und Schwärzung. Dicke Stäbchen und Doppelstäbchen, vereinzelt mit endständiger Spore ohne Auftreibung; reichlich eiförmige Stäbchen (Clostridien) ohne Bewegung. Einzelne dünne, kurze Stäbchen zeigen eine stark tanzende Drehbewegung. In den folgenden Tagen bleibt das Hirn weißgrau, während die Anzahl der grampositiven schlanken, beweglichen Stäbchen zunimmt.

Stamm 7 II. Ausgangskultur auf Traubenzuckerbouillon mit Kaninchenserum: lange, schlanke, sporenlose, teils geschnörkelte, unbewegliche Stäbchen, überwiegend gramnegativ; vereinzelte Stäbchen grampositiv oder stückweise grampositiv. Kohlehydratnährböden, mit der Ausgangskultur beimpft, blieben unbewachsen; von Hirnnährboden aus beimpft, zeigten sie reichliches Wachstum mit Gasbildung und waren leicht auf Kohlehydratnährböden weiterzuzüchten. Auf Hirnnährböden Gasbildung. Nach 2 Tagen 37° dicke, meist eiförmige Bacillen mit einer endständigen Spore, sowie plumpe Stäbchen und Doppelstäbchen, unbeweglich. Nach 4 Tagen Beginn der Hirnschwärzung unter Bildung grampositiver, schlanker, beweglicher Stäbchen und Doppelstäbchen, teils mit Sporen.

Stamm 38 I. Ausgangskultur: auf Traubenzuckerbouillon mit Kaninchenserum: ziemlich schlanke Stäbchen, hier und da um sich selbst herumwirbelnd ohne Vorwärtsbewegung. Stäbchen mit hellglänzenden Einschlüssen, Doppelstäbchen, Sporenstäbchen, sowie Sporen. Ueberwiegend grampositiv. Auf Traubenzuckeragar und -bouillon lebhaft Gasbildung. Hirnschwärzung nach 2 Tagen.

Stamm Charité: Steril entnommenes Oedem: sehr spärliche, unbewegliche, dicke, sporenlose Stäbchen. Traubenzuckerbouillon und -agar starke Gasbildung. Grampositive plumpe bis schlankere, unbewegliche Stäbchen, zum Teil mit hellen, ungefärbten Partien. Hirnnährboden zeigt nach 24 Stunden starke Gasbildung, reichlich grampositive, lebhaft bewegliche Stäbchen, Keulen und Sporenstäbchen. Hirnschwärzung am 4. Tag.

Auszug aus dem Sektionsprotokoll vom 13. III. 1917 (Obduktions-No. 219; Obduzent Dr. Koch):

Todeskrankheit: Gasbrand nach Unfall.

Operationsdefekt der Zehen des rechten Fußes; schwerer Gasbrand des ganzen rechten Beins mit Abhebung der Epidermis am Unterschenkel und mehrfachen, gut fingerlangen Inzisionen an der Außenseite des Oberschenkels. Ausgedehnte Gasansammlung unter der Haut des rechten Oberschenkels, sowie unter dem Peritoneum des Beckens. Starke Trübung und Morschheit der Muskulatur am rechten Oberschenkel und am rechten Musc. psoas. Nekrose des subperitonealen und subkutanen Fettgewebes rechts. Rotes Knochenmark in der oberen Hälfte des V. femur. (Keine bemerkbare Gasentwicklung weder im roten Mark noch im Fettmark.) Geringe Gasmengen im rechten Herzen. Reichliche Fettmengen in der Ven. femoralis und iliaca dextr. und Cava inf. (in den linken Venen Fett nicht mit Sicherheit nachweisbar). Reichliche Fettmengen im rechten Herzen, links nichts. Fettembolie der Lunge.

Schaumleber und Schaummilz leichten Grades.

Stamm 26 III, 152, 155, 126 zeigen auf Traubenzuckeragar und -bouillon eine nur mäßige Gasbildung. Hirnnährboden wird in 24 bis 48 Stunden geschwärzt unter Bildung lebhaft beweglicher, zumeist sporentragender Stäbchen, welche die Gramfärbung mehr oder minder stark annehmen.

Um eine gleichzeitige Prüfung der beiden Wuchsformen eines und desselben Stammes im Reagenzglasversuch durchführen zu können, wird ein Versuch mit dem Stamm 144 A in seiner ursprünglichen vegetativem Gärform und in der sporogänen Fäulnisform vorgenommen, welche als 144 B bezeichnet wird.

Die Gewinnung dieses Stammes 144 B war folgendermaßen:

Zwei der am 17. III. mit Traubenzuckeragar, Reinkultur von Einzelkolonie 144 A, beimpften Hirnröhrchen zeigten sich nach Aufbewahrung bei Zimmertemperatur bei einer zufälligen Besichtigung nach fast 1½ Monaten am 1. V. schwärzlich, stark gashaltig und von intensivem Fäulnisgeruch. Die mikroskopische Betrachtung im hängenden Tropfen zeigte das Vorhandensein massenhafter dicker und dünnerer Stäbchen und Doppelstäbchen von lebhafter Beweglichkeit. Außerdem finden sich ziemlich reichlich bewegliche, keulenartig aufgetriebene Stäbchen mit kleinen, halb endständigen Sporen.

Von diesem Hirn wird am 1. V. eine Traubenzuckerbouillonkultur und eine neue Hirnkultur angelegt. Erstere enthält am 2. V. ausschließlich plumpe, unbewegliche Stäbchen und Doppelstäbchen ohne Sporen. Das Gehirn ist stark gashaltig und weiß, ohne Fäulnisgeruch.

Am 3. V. wird von der jetzt 2 Tage alten Hirnkultur vom 1. V. wiederum Hirn- und Traubenzuckerbouillonkultur angelegt. Am 4. V. ist dieses Hirn grauweiß, die Bouillon trübe und enthält zahlreiche, bewegliche, schlanke Stäbchen neben vereinzelt plumperen, unbeweglichen. Alle Stäbchen sind grampositiv. In Traubenzuckeragar-Schüttelkulturen bleibt die oberste Schicht etwa 1 cm unbewachsen. Schrägagar bleibt steril. Es liegt also hier eine aus 144 A abgezweigte Kultur mit reichlichen Fäulnisformen vor, aus der die ursprüngliche Wuchsform wieder erhalten werden konnte, sowie die sporogene bewegliche Form, die nach Kochen als 144 B zum Versuch benutzt wurde.

Teilt man die Stämme in verschiedene Typen ein, so würden die Stämme 144 A, 148 A und 150 A, wie wir sie auf Traubenzuckernährböden fortzüchteten und von diesen aus zu unseren Versuchen benutzten, als Welch-Fränkelsche Bacillen resp. Gasbrandbacillen vom vegetativem Gärtyp nach Conradi-Bieling zu bezeichnen sein. Stamm 6 bildet auf den für unsere Versuche benutzten Kohlehydratnährböden keine Sporen, zeigt aber einzelne bewegliche Stäbchen; er neigt mehr zum Fäulnistyp nach Conradi-Bieling; ähnlich ist Stamm 26 I. Die Stämme 7 II, 38 I, Charité, 26 II, 152, 155, 126 wären, wenn man eine scharfe Abtrennung versucht, als Bacillen des malignen Oedems resp. als sporogene Fäulnisformen des Gasbrandbacillus zu bezeichnen, wobei zwischen den einzelnen Stämmen wiederum Differenzen bestehen. Schließt man sich der von Aschoff¹⁾ gewählten Nomenklatur an, so lagen zu den folgenden Versuchen tierpathogene Vertreter der Gasbrandgruppe (unbeweglicher Butyricus), der Rauschbrandgruppe (beweglicher Butyricus), sowie der Gruppe des malignen Oedems (beweglicher Putrificus) vor.

Die Stämme 144 A, 148 A und 150 A wurden in der vegetativen Form der plumpen unbeweglichen Stäbchen zum Versuch benutzt, die übrigen Stämme in der Form schlanker, schwach beweglicher Stäbchen oder stark beweglicher, mehr oder weniger gramresistenter Sporenstäbchen.

Als Impfmateriel für die Reagenzglasversuche verwendeten wir gut gärende Kulturen in 1-proz. Traubenzuckerbouillon.

1) Deutsche med. Wochenschr., 1917, No. 47.

Nach 1-tägiger Bebrütung bei 38° wurden die Kulturen aus dem Brutschrank genommen und entweder sofort oder nach höchstens 4-tägiger Aufbewahrung bei Zimmertemperatur benutzt. Gelegentlich diente auch eine Kultur in 2-proz. Traubenzuckerbouillon, gemischt mit gleichen Teilen Ziegenmilch, als Impfmateriel.

A. Reagenzglasversuche.

Die erste Aufgabe bestand darin, zu untersuchen, ob die Gasbrandbacillen durch die Verbindungen der Hydrochininreihe geschädigt werden, und dann weiterhin durch vergleichende Versuche die wirksamste Verbindung zu ermitteln.

Als Nährboden wählten wir den 1-proz. Traubenzuckeragar, weil sich in diesem die Entwicklung der Gasbrandbacillen in übersichtlicher Weise kundgibt und durch Abschätzung der Zahl und Größe der Einzelkolonien, sowie durch die sinnfälligen Folgen der Gasbildung gut einigermaßen quantitativ beurteilen läßt. Die Beeinflussung der Gasbildung wird noch besonders besprochen werden.

Die Technik dieser Versuche gestaltete sich im einzelnen folgendermaßen:

Wir gingen von einer 1-proz. wässerigen Stammlösung leicht löslicher Salze der Alkaloide aus, die stets nach höchstens 4 Tagen erneuert wurde; es geschah dies, da von mehreren Seiten, besonders von Ophthalmologen, angegeben wurde, daß den wässerigen Optochinlösungen nur eine begrenzte Haltbarkeit unter den gewöhnlichen Bedingungen der Aufbewahrung zukomme.

Geeignete Verdünnungen wurden dann mit sterilem Wasser hergestellt und berechnete Mengen, maximal 1,0, in sterile, mit Wattepfropf versehene Jenaer Reagenzgläser eingefüllt; mit 1-proz. Traubenzuckerbouillon wurde auf 1 ccm aufgefüllt, dann 0,05—0,2 ccm der gut bewachsenen Impfbouillon zugegeben und mit 1-proz. Traubenzuckeragar auf 10 ccm, seltener auf 5 ccm aufgefüllt. Nach sorgfältiger Durchmischung kommt die Kultur in den Brutschrank bei 38°. Die Ablesung erfolgt in den nächsten 2—3 Tagen, also nach 24 bzw. 48 usw. Stunden. Ueber den Verlauf derartiger Versuche belehrt am einfachsten folgendes Versuchsprotokoll (Tabelle I).

Tabelle I (Versuch vom 29. I. 1917).

Vergleichende Bestimmung der Wirksamkeit von Verbindungen der Hydrochininreihe auf den Gasbrandstamm 144 A in Traubenzuckeragar.

Fallende Mengen einer 1-proz. wässerigen Lösung resp. deren Verdünnungen von

1. Optochin hydrochloricum,
2. Eucupin bihydrochloricum,
3. Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum,
4. Decylhydrocuprein bihydrochloricum

werden mit Traubenzuckerbouillon auf 1,0 aufgefüllt und 0,2 ccm einer Traubenzuckerbouillon-Ziegenmilchkultur des Stammes 144 A (48 Stunden alt) zugefügt und mit 4,0 ccm 1-proz. Traubenzuckeragar versetzt. In der Tabelle sind die Endverdünnungen angegeben. Das Wachstum bei 38° wird in den folgenden 3 Tagen abgelesen und, wie folgt, notiert:

1. Optochin hydrochloricum.

	1. Tag	2. Tag	3. Tag
1:500	0	0	0
1:1000	0	0	0
1:2500	0	0	0
1:5000	Glasbläschen	etwas Gas, Einzelkolonien	
1:10 000	viel Gas	viel Gas, Einzelkolonien	
1:25 000	dgl.	viel Gas, kleine Einzelkolonien	
Kontrolle		viel Gas u. massenhafte ganz feine Einzelkolonien	

2. Eucupin bihydrochloricum.

	1. Tag	2. Tag	3. Tag
1:1000	0	0	0
1:2500	0	0	0
1:5000	0	0	0
1:10 000	0	0	0
1:25 000	0	0	0
1:50 000	viel Gas	viel Gas, zahlreiche Einzelkolonien	viel Gas, zahlreiche Einzelkolonien
1:75 000	dgl.	dgl.	dgl.
1:100 000	"	"	"

3. Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum.

	1. Tag	2. Tag	3. Tag
1:1000	0	0	0
1:2500	0	0	0
1:5000	0	0	0
1:10 000	0	0	0
1:25 000	0	0	0
1:50 000	0	0	0
1:75 000	einzelne Gasbläschen	etwas Gas und einige Einzelkolonien	
1:100 000	mehrere Gasrisse	dgl.	
1:250 000	viel Gas	viel Gas, viel Einzelkolonien	

4. Decylhydrocuprein bihydrochloricum.

	1. Tag	2. Tag	3. Tag
1:1000	0	0	0
1:2500	0	0	0
1:5000	0	0	0
1:10 000	0	0	0
1:25 000	0	0	0
1:50 000	mehrere Gas- bläschen	einzelne Risse u. Einzel- kolonien	
1:75 000	viel Gas	viel Gas, viele Einzel- kolonien	
1:100 000	dgl.	dgl.	
1:250 000	„	„	

Dieser Versuch zeigt, daß die Zunahme der Zahl der Kohlenstoffatome in der Seitenkette des Hydrochininmoleküls von zweibis acht von einem Anstieg der Desinfektionswirkung auf die Gasbrandbacillen begleitet wird. Das Isoctylhydrocuprein stellt hier die wirksamste Verbindung für die Gasbrandbacillen dar, während beim weiteren Fortschreiten in der homologen Reihe die Decylverbindung bereits wieder eine Abnahme der Hemmungswirkung zeigt. Dem Anstieg einer die Wirkungsgröße darstellenden Kurve von der Aethylverbindung, dem Optochin, über die Amylverbindung folgt also zur Decylverbindung hin bereits wieder ein Absinken.

Die weiteren Versuche werden zeigen, daß diese zahlenmäßige Proportion beim Vergleich der homologen Hydrochininreihe bei sämtlichen Versuchen wiederkehrt und daß auch die Versuche mit den verschiedenen weiteren Gasbrandstämmen im Sinne dieser Auffassung sprechen, wenn auch hier eine irgendwie erschöpfende Untersuchung der ganzen Reihe vorläufig zu den technischen Unmöglichkeiten gehörte. Dagegen ist die absolute Höhe der jeweiligen Desinfektionswerte auch bei Verwendung eines und desselben Stammes Schwankungen unterworfen.

Dies wird am deutlichsten bei einer Uebersicht über die zahlenmäßigen Ergebnisse sämtlicher Versuche in Traubenzuckeragar.

Tabelle II—VI.

Wachstumshemmung der Gasbrandbacillen in Traubenzuckeragar. Schüttelkulturen bei Zusatz von Chinaalkaloiden.

Tabelle II.

Chininum hydrochloricum.

	Völlige Wachstums- hemmung	Keine oder unvollständige Wachstumshemmung
	Stamm 144 A.	
1) 8. II.	1:2500	1:5000
2) 13. II.	1:2500	1:5000
	Stamm 126.	
1) 13. II.	1:2500	1:5000
	Stamm 6.	
1) 13. II.	1:2500	1:5000

Die Wachstumshemmung des salzsauren Chinins auf verschiedene Gasbrandstämme in Traubenzuckeragar ist also nicht sehr erheblich. Verdünnungen von 1:2500 verhindern durchgehends jede Entwicklung der Bacillen, während solche von 1:5000 bereits versagen.

Eine kaum bessere Wirkung hat die Aethylverbindung der Hydrochinreihe, das Optochin.

Tabelle III.

Optochinum hydrochloricum.

	Völlige Wachstums- hemmung	Keine oder unvollständige Wachstumshemmung
	Stamm 144 A.	
1) 29. I.	1:2500	1:5000
2) 2. II.	1:2500	1:5000
3) 2. II.	1:2500	1:5000
4) 3. II.	1:5000	1:10 000
5) 8. II.	1:7000	1:10 000
6) 13. II.	1:2500	1:5000
7) 14. II.	1:2000	1:4000
	Stamm 126.	
1) 29. I.	1:2500	1:5000
2) 9. II.	1:2500	1:5000
3) 9. II.	1:2500	1:5000
4) 12. II.	1:4000	1:6000
5) 12. II.	1:6000	1:8000
6) 13. II.	1:2500	1:5000
7) 30. I.	1:1000	1:2500
	Stamm 6.	
1) 29. I.	1:2500	1:5000
2) 9. II.	1:2500	1:5000
3) 9. II.	1:5000	1:10 000
4) 12. II.	—	1:1000
5) 12. II.	—	1:2000
6) 13. II.	1:2500	1:5000

Die aufgeführten 20 Versuchsreihen mit drei verschiedenen Gasbrandstämmen zeigen, daß die Wirkung des Optochins diejenige des Chinins gewöhnlich nicht übertrifft. Denn auch hier hemmen zumeist Verdünnungen von 1:2500 das Wachstum, während 1:5000 versagt. Gelegentlich erwiesen sich aber auch noch Optochinkonzentrationen von 1:5000 bis 1:7000 voll wirksam, während andererseits einmal selbst 1:1000 versagte.

Eine deutliche Verbesserung der Wirkung wird erzielt mit dem Uebergang von der Aethylverbindung, dem Optochin, zur Amylverbindung, dem Eucupin.

Tabelle IV.
Eucupin bihydrochloricum.
Völlige Wachstums- Keine oder unvollständige
hemmung Wachstumshemmung

Stamm 144 A.		
1) 29. I.	1:25 000	1:50 000
2) 2. II.	1:10 000	1:25 000
3) 2. II.	1:10 000	1:25 000
4) 3. II.	1:25 000	1:50 000
5) 6. II.	1:20 000	1:22 000
6) 19. II.	1:20 000	1:40 000
7) 20. II.	1:29 000	1:33 000
8) 22. II.	1:22 000	1:25 000
9) 22. II.	1:20 000	1:40 000
10) 23. II.	1:20 000	1:40 000
Stamm 26 I.		
1) 14. IV.	1:40 000	1:60 000
2) 20. IV.	1:20 000	1:40 000
3) 21. IV.	1:60 000	1:80 000
Stamm 38 I.		
1) 13. IV.	1:20 000	1:40 000
2) 17. IV.	1:20 000	1:40 000
3) 19. IV.	1:20 000	1:40 000
Stamm 7 II.		
1) 16. IV.	1:10 000	1:20 000
2) 17. IV.	1:40 000	1:60 000
Stamm 20 III.		
1) 16. IV.	1:10 000	1:20 000
2) 18. IV.	1:20 000	1:40 000
3) 19. IV.	1:20 000	1:40 000
Stamm 126.		
1) 29. I.	1:10 000	1:25 000
2) 9. II.	1:25 000	1:50 000
3) 12. II.	1:20 000	1:40 000
4) 12. II.	1:20 000	1:40 000
5) 30. I.	1:5000	1:10 000
6) 6. III.	1:25 000	1:50 000

	Völlige Wachstums- hemmung	Keine oder unvollständige Wachstumshemmung
	Stamm 6.	
1) 29. I.	1:10 000	1:25 000
2) 9. II.	1:5000	1:10 000
3) 9. II.	1:25 000	1:50 000
4) 12. II.	1:10 000	1:20 000
5) 12. II.	1:10 000	1:20 000

Die Ueberlegenheit des Eucupins über das Optochin geht aus diesen 32 Versuchsreihen deutlich hervor. Nur zweimal versagten Verdünnungen unter 1:10 000. Diese zwei schlechtesten Versuchsergebnisse entsprechen aber immerhin noch den besten mit Optochin. Im allgemeinen jedoch gelingt eine völlige Wachstumshemmung noch mit Konzentrationen von 1:20 000 bis 1:25 000, und man wird wohl nicht fehlgehen, wenn man im Durchschnitt die völlige Wachstumshemmung durch das Eucupin bei Werten knapp oberhalb 1:20 000 annimmt, d. h. die Wirksamkeit des Eucupins ist achtmal so stark wie die des Chinins und des Optochins.

Eine weitere Steigerung erhält man beim Uebergang zu der Isoktylverbindung (Vuzin).

Tabelle V.
Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum.

	Völlige Wachstums- hemmung	Keine oder unvollständige Wachstumshemmung
	Stamm 144 A.	
1) 29. I.	1:50 000	1:75 000
2) 2. II.	1:25 000	1:50 000
3) 2. II.	1:10 000	1:25 000
4) 3. II.	1:25 000	1:50 000
5) 6. II.	1:24 000	1:28 000
6) 19. II.	1:60 000	1:80 000
7) 20. II.	1:60 000	1:63 000
8) 22. II.	1:60 000	1:63 000
9) 22. II.	1:60 000	1:80 000
10) 23. II.	1:40 000	1:60 000
11) 23. II.	1:60 000	1:80 000
12) 27. II.	1:80 000	1:100 000
13) 28. II.	1:150 000	1:200 000
14) 5. III.	1:60 000	1:80 000
15) 7. III.	1:40 000	1:60 000
16) 7. III.	1:40 000	1:60 000
17) 9. III.	1:70 000	1:100 000
18) 9. III.	1:60 000	1:70 000
19) 12. III.	1:60 000	1:80 000
20) 19. III.	1:60 000	1:80 000
21) 15. III.	1:20 000	1:40 000
22) 16. III.	1:20 000	1:40 000
23) 21. III.	1:100 000	1:200 000

	Völlige Wachstums- hemmung	Keine oder unvollständige Wachstumshemmung
	Stamm 126.	
1)	29. I.	1 : 10 000
2)	9. II.	1 : 25 000
3)	9. II.	1 : 100 000
4)	12. II.	1 : 40 000
5)	12. II.	1 : 40 000
6)	30. I.	1 : 10 000
7)	6. III.	1 : 25 000
8)	7. III.	1 : 20 000
9)	7. III.	1 : 20 000
10)	9. III.	1 : 20 000
11)	9. III.	1 : 20 000
12)	15. III.	1 : 60 000
13)	16. III.	1 : 60 000
14)	21. III.	1 : 80 000
	Stamm 6.	
1)	29. I.	1 : 25 000
2)	9. II.	1 : 25 000
3)	9. II.	1 : 100 000
4)	12. II.	1 : 40 000
5)	12. II.	1 : 40 000
6)	19. III.	1 : 20 000
	Stamm 148 A.	
1)	23. III.	1 : 40 000
2)	29. III.	1 : 40 000
	Stamm 150 A.	
1)	24. III.	1 : 40 000
2)	29. III.	1 : 20 000
	Stamm Charité.	
1)	16. III.	1 : 20 000
2)	19. III.	1 : 20 000
	Stamm 152.	
1)	24. III.	1 : 40 000
2)	30. III.	1 : 40 000
	Stamm 155.	
1)	24. III.	1 : 40 000
2)	30. III.	1 : 20 000
	Stamm 26 I.	
1)	14. IV.	1 : 40 000
2)	20. IV.	1 : 40 000
3)	21. IV.	1 : 60 000
	Stamm 38 I.	
1)	13. IV.	1 : 20 000
2)	17. IV.	1 : 20 000
3)	19. IV.	1 : 20 000
	Stamm 7 II.	
1)	16. IV.	1 : 40 000
2)	17. IV.	1 : 20 000
3)	19. IV.	1 : 20 000
	Stamm 26 III.	
1)	16. IV.	1 : 10 000
2)	18. IV.	1 : 60 000
3)	19. IV.	1 : 20 000

Diese 62 Versuchsreihen zeigen deutlich die Ueberlegenheit des Isoktylhydrocupreins über die sämtlichen bisher besprochenen Verbindungen. Nur fünfmal liegt die absolute Hemmungsdosis zwischen der Verdünnung 1:10 000 und 1:20 000 bzw. 1:25 000. Ebenso blieben die Versuche, in denen Konzentrationen von 1:100 000 und darüber noch völlige Wachstumshemmung bewirken, vereinzelt. Nimmt man den Durchschnitt der Werte, so kommt man auf etwa 1:40 000, d. h. die Wirkung des Isoktylhydrocupreins auf die Gasbrandbacillen ist etwa doppelt so groß wie die des Eucupins und 16mal so groß wie die des Chinins und Optochins.

Bei weiterem Fortschreiten in der homologen Hydrochinreihe scheint die Desinfektionskraft wieder zu sinken, wie die drei folgenden Versuche mit der Decylverbindung zeigen. Das Versuchsmaterial ist hier zu spärlich, um uns genauen Aufschluß über die zahlenmäßigen Proportionen zu geben. So viel geht aber aus dem Vergleich mit den gleichzeitigen sonstigen Versuchsreihen hervor, daß die Isoktylwirkung nicht erreicht wird, nicht einmal diejenige des Eucupins. Eine Vervollständigung der Versuche muß noch erfolgen.

Tabelle VI.
Decylhydrocuprein bihydrochloricum.

	Völlige Wachstums- hemmung	Keine oder unvollständige Wachstumshemmung
	Stamm 144 A.	
29. I.	1:25 000	1:50 000
	Stamm 126.	
29. I.	1:2500	1:5000
	Stamm 6.	
29. I.	1:5000	1:10 000

Obwohl nun die Versuche völlig gleichartig angestellt wurden, so bietet doch schon die Technik selbst die Möglichkeit gewisser Abweichungen. Insbesondere eine nicht ganz homogene Vermischung des bis nahe an den Erstarrungspunkt abgekühlten Agars mit der Verdünnung des Heilmittels kann hier zu Unterschieden führen; vor allem bei dem Isoktylhydrocuprein, dessen Diffusion in Agar, wie später gezeigt werden soll, nur sehr gering ist. Daneben aber muß

in erster Linie noch die Bedeutung der Impfmenge berücksichtigt werden, weil dieser Faktor in den verschiedenen Versuchen nicht völlig gleich war. Denn obwohl fast durchweg 24 Stunden bebrütete Traubenzucker-Bouillonkulturen als Impfmateriel benutzt wurden, so zeigt doch bereits die Betrachtung in der Durchsicht, daß mit einer wechselnden Bakteriendichte in der Kultur gerechnet werden mußte. Auch bei gleichen Impfmengen konnte also die Anzahl der eingesäten Bakterien weitgehenden Schwankungen unterworfen sein. Die folgenden vergleichenden Versuche zeigen denn auch, daß die absolute Desinfektionsgröße mit steigender Menge des Impfmateriels abnehmen kann.

Tabelle VII.

Fallende Mengen wässriger Lösungen der salzsauren bzw. doppel-salzsauren Salze werden mit 1-proz. Traubenzuckerbouillon auf 1,0 aufgefüllt, beimpft und mit 1-proz. Traubenzuckeragar auf das Volumen 10,0 gebracht. Ablesung des Wachstums nach 24-stündiger Bebrütung bei 38° am folgenden Tag.

Stamm 6.

a) Versuch vom 9. II. Impfmateriel: 2-tägige Traubenzucker-Bouillonkultur. A: 0,5 ccm, B: 0,05 ccm = 0,5 $\frac{1}{10}$.

A: Impfmenge 0,5 B: Impfmenge 0,05

1. Optochin hydrochloricum.

1:2500	0	0
1:5000	etwas Gas	0
1:10 000	sehr viel Gas	sehr viel Gas
1:25 000	" " "	" " "
Kontrolle	" " "	" " "

2. Eucupin bihydrochloricum.

1:5000	0	0
1:10 000	sehr viel Gas	0
1:25 000	" " "	0
1:50 000	" " "	sehr viel Gas
1:75 000	" " "	" " "

3. Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum.

1:10 000	0	0
1:25 000	0	0
1:50 000	viel Gas	0
1:75 000	" "	0
1:100 000	" "	0
1:250 000	sehr viel Gas	sehr viel Gas

Bei Verwendung einer 10mal kleineren Einsaat zur Beimpfung wird also die Desinfektionskraft der drei geprüften Verbindungen der Chininreihe um das 2—4-fache vergrößert.

In einem zweiten analogen Versuch ließen sich derartige Unterschiede bei Wahl verschiedener Impfmengen nicht erzielen; eine deutliche Differenz tritt nur in dem Versuch mit Eucupin hervor.

Tabelle VIII.

b) Versuch vom 13. II. Impfmateri al: 2-tägige Traubenzucker-Bouillonkultur. A: 0,1 ccm unverdünnt, B: 0,1 ccm $\frac{1}{10}$ verdünnt.

	A: Impfmenge 0,1	B: Impfmenge 0,01
1. Optochin hydrochloricum.		
1:1000	sehr viel Gas	—
1:2000	" " "	sehr viel Gas
Kontrolle	—	" " "
2. Eucupin bihydrochloricum.		
1:10 000	0	0
1:20 000	massenhaft feinste gaslose Kolonien	einzelne gaslose Kolonien
1:40 000	sehr viel Gas	sehr viel Gas
1:60 000	" " "	" " "
3. Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum.		
1:20 000	0	0
1:40 000	0	0
1:60 000	einzelne gaslose Kolonien	einzelne gaslose Kolonien
1:80 000	viel Gas	einzelne gaslose Kolonien
1:100 000	sehr viel Gas	viel Gas

Ganz ähnliche Ergebnisse wie in Tabelle VII hatten gleichartige Versuchsreihen mit Stamm 126.

Tabelle IX.

Stamm 126.

a) Versuch vom 9. II. Impfmateri al: 2-tägige Traubenzucker-Bouillonkultur. A: 0,5 ccm unverdünnt, B: 0,5 ccm verdünnt mit physiologischer Kochsalzlösung.

	A: Impfmenge 0,5	B: Impfmenge 0,05
1. Optochin hydrochloricum.		
1:2500	0	0
1:5000	viel Gas	viel Gas
1:10 000	" "	" "
Kontrolle	" "	" "
2. Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum.		
1:15 000	0	0
1:10 000	0	0
1:25 000	sehr viel Gas	0
1:50 000	viel Gas	0
1:75 000	—	0
1:100 000	—	0
1:250 000	—	sehr viel Gas

6*

b) Versuch vom 12. II. Impfmateriel: 2-tägige Traubenzucker-Bouillonkultur. A: 0,1 ccm unverdünnt, B: 0,1 ccm $\frac{1}{10}$ verdünnt mit physiologischer Kochsalzlösung.

A: Impfmenge 0,1

B: Impfmenge 0,01

1. Optochin hydrochloricum.

1:2000	0	0
1:4000	0	0
1:6000	wenig Gas	0
1:8000	mäßig Gas	5 gaslose Kolonien
1:10 000	sehr viel Gas	10
1:15 000	—	reichlich " gaslose Kolonien
Kontrolle	—	viel Gas

2. Eucupin bihydrochloricum.

1:10 000	0	0
1:20 000	0	0
1:40 000	mäßig Gas	wenig Gas
1:60 000	" "	mäßig Gas

3. Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum.

1:20 000	0	0
1:40 000	0	0
1:60 000	reichlich gaslose Kolonien	0
1:80 000	reichlich gaslose Kolonien und etwas Gas	reichlich gaslose Kolonien

Auch bei Stamm 126 ergibt sich also wiederum, und zwar in beiden Versuchsreihen, daß eine Verminderung der Einsaat auf den 10. Teil die Desinfektionsstärke unter den gewählten Bedingungen bis um das 10-fache vergrößern kann.

Keine sehr starken Unterschiede dagegen ergeben die analogen Versuche mit Stamm 144 A.

Tabelle X.

Stamm 144 A.

Versuch vom 2. und 3. II. Impfmateriel: Traubenzuckerbouillon-Ziegenmilchkultur vom 29. I. A: 0,2 ccm unverdünnt; B: 0,5 ccm $\frac{1}{10}$, C: 0,5 ccm $\frac{1}{100}$ verdünnt mit physiologischer Kochsalzlösung.

A: Impfmenge 0,2 B: Impfmenge 0,05 C: Impfmenge 0,005

1. Optochin hydrochloricum.

1:2500	0	0	0
1:5000	sehr viel Gas	viel Gas	0
1:10 000	" " "	sehr viel Gas	sehr viel Gas
1:25 000	" " "	" " "	" " "
Kontrolle	—	" " "	" " "

2. Eucupin bihydrochloricum.

1:5000	0	0	0
1:10 000	0	0	0
1:25 000	sehr viel Gas	sehr viel Gas	0
1:50 000	" " "	" " "	viel Gas
1:75 000	" " "	" " "	sehr viel Gas

3. Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum.

A: Impfmenge 0,2 B: Impfmenge 0,05 C: Impfmenge 0,005

1:10 000	0	0	0
1:25 000	0	etwas Gas	0
1:50 000	sehr viel Gas	sehr viel Gas	wenig Gas
1:75 000	" " "	" " "	sehr viel Gas

Die Zusammenfassung der mitgeteilten Versuche ergibt, daß die Menge der Einsaat für die zahlenmäßige Größe der Desinfektionswerte bei unseren Gasbrandversuchen von Bedeutung sein kann. Da bei den zahlreichen, über eine längere Zeit verteilten, wenn auch sonst gleichartigen, Versuchen mit einer verschiedenen Dichte der im Einzelfall verwendeten Impfbouillon gerechnet werden muß, so dürften sich die quantitativen Unterschiede bei der Verwendung verschiedener Bouillonkulturen zur Beimpfung zum Teil wohl als Funktion verschiedener Einsaatmengen erweisen.

Dagegen scheint dem Alter der Kultur für das Zustandekommen der erwähnten Schwankungen hier keine wesentliche Bedeutung zuzukommen, wie folgender Versuch zeigt.

Tabelle XI.

In dem Versuch, der mit Traubenzuckeragar analog den früheren angesetzt ist, wird zur Beimpfung eine etwa 24 Stunden im Brutschrank bei 38° gehaltene Traubenzucker-Bouillonkultur verwandt, die danach bei Zimmertemperatur aufbewahrt wird.

1) 2. II. Impfmenge: 0,05 ccm 4-tägige Traubenzucker-Bouillonkultur 144 A. Ablesung nach 24 Stunden 38°.

a) Eucupin bihydrochloricum.

1:10 000	0
1:25 000	sehr viel Gas

b) Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum.

1:10 000	0
1:25 000	etwas Gas
1:50 000	sehr viel Gas

2) 6. II. Impfmenge: 0,05 ccm 8-tägige Traubenzucker-Bouillonkultur 144 A, dieselbe Kultur wie in 1) vom 2. II. nach weiteren 4 Tagen bei Zimmertemperatur.

a) Eucupin bihydrochloricum.

Ablesung am 7. II. Ablesung am 8. II.

1:18 000	0	0
1:20 000	0	0
1:22 000	wenig Gas	viel Gas
1:28 000	viel Gas	sehr viel Gas
Kontrolle 1	sehr viel Gas	" " "
" 2	" " "	" " "
" 3	" " "	" " "
" 4	" " "	" " "

b) Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum.

	Ablesung am 7. II.	Ablesung am 8. II.
1:24 000	0	0
1:28 000	sehr viel Gas	sehr viel Gas
1:30 000	viel Gas	viel Gas

Der Vergleich der Desinfektionswerte bei Verwendung derselben Kultur zur Beimpfung einmal nach 24-stündiger Bebrütung und 3-tägiger Aufbewahrung in Zimmertemperatur, das andere Mal nach nochmals 4-tägigem Aufenthalt in Zimmertemperatur zeigt keine erheblichen Unterschiede. Da nun bei den sämtlichen Versuchen als Impfmateriel 1 Tag lang bebrütete und dann im Zimmer höchstens noch 4 Tage aufbewahrte Kulturen verwandt wurden, so dürfte das Alter der Kulturen für das Zustandekommen der zahlenmäßigen Schwankungen nur von untergeordneter Bedeutung sein.

Diese Beobachtungen zeigen, daß zu vergleichenden Versuchen über die Wirksamkeit verschiedener Chemikalien auf die Gasbrandbacillen nicht nur gleichartige, sondern auch gleichzeitige Versuche zu fordern sind. Weiterhin ergibt sich dann, daß auch in solchen Versuchen, in denen, wie in den obigen, die absoluten Desinfektionswerte an der unteren Grenze liegen, wo also die Desinfektionswirkung relativ am geringsten erscheint, dennoch stets das Isoktylhydrocuprein dem Eucupin überlegen ist. Diese Tatsache weist darauf hin, daß der Grund für die absoluten Schwankungen außerhalb der Chemikalien und in Eigenschaften der Kultur zu suchen ist. Um die Beziehungen nochmals klar herauszuheben, lassen wir eine vergleichende Einstellung von Stamm 144 A gegen Eucupin und Isoktyl mit kleinen Intervallen folgen, die diese Proportion besonders eindringlich zeigt.

Tabelle XII.

Vergleichende Bestimmung der Wirksamkeit von Eucupin und Isoktylhydrocuprein auf den Gasbrandstamm 144 A, in Traubenzuckeragar-Versuch vom 20. II.

Fallende Mengen einer 1-proz. wässrigen Lösung von

1) Eucupin bihydrochloricum,

2) Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum

werden mit 1-proz. Traubenzuckerbouillon und mit 0,1 ccm einer Traubenzucker-Bouillonkultur 144 A vom 17. II. auf 1 ccm aufgefüllt und mit

9 ccm 1-proz. Traubenzuckeragar auf das Volumen 10,0 gebracht. Nach sorgfältigem Durchschütteln werden die Kulturen im Brutschrank bei 38° gehalten und das Wachstum am folgenden und übernächsten Tage beobachtet.

Lösung 1:1000	Verdünnung	21. II.	22. II.
1. Eucupin bihydrochloricum (20. II.).			
0,5	1:20 000	0	0
0,45		0	0
0,4		0	0
0,35	1:28 600	0	0
0,3	1:33 000	sehr viel Gas	sehr viel Gas
0,25	1:40 000	2 kleine Gasblasen	" " "
0,2	1:50 000	sehr viel Gas	" " "
2. Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum (20. II.).			
0,25	1:40 000	0	0
0,2	1:50 000	0	0
0,18	1:56 000	0	0
0,17	1:60 000	0	0
0,16	1:63 000	0	mäßig Gas
0,15	1:67 000	viel Gas	sehr viel Gas
0,14		eine Gasblase	" " "
0,13	1:80 000	viel Gas	" " "
Kontr. I	—	" "	" " "
" II	—	" "	" " "
" III	—	" "	" " "

Wir sehen also, daß die wirksame Konzentration des Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum zwischen 1:60 000 und 1:63 000 liegt, während diejenige des Eucupin bihydrochloricum zwischen 1:29 000 und 1:33 000 zu suchen ist. Ein zweiter gleichartiger Versuch vom 22. II. mit der doppelten Impfmenge (0,2 ccm) derselben nunmehr 5-tägigen Traubenzucker-Bouillonkultur ergab für das Isoktylhydrocuprein dieselbe Hemmungsdose zwischen 60 000 und 63 000, während sie für das Eucupin zwischen 22 000 und 25 000 lag.

Wir hatten bereits oben darauf hingewiesen, daß die Desinfektionswerte in Traubenzuckeragar für die 12 verschiedenen geprüften Stämme sich innerhalb derselben Größenordnung bewegen und daß für sämtliche Stämme das Isoktylhydrocuprein das optimale Präparat darstellt. Es ergibt sich hieraus, daß alle Wuchsformen des Gasbrandbacillus von der desinfizierenden Wirkung der höheren Homologen der Hydrochininreihe erfaßt werden, daß es insbesondere ohne Belang ist, ob der Gasbrandbacillus in der Form des plumpen, unbeweglichen Stäb-

chens, der vegetativen A-Form (immobiler Butyricus, Typ des Bac. emphysemat. Welch-Fraenkel), oder des beweglichen Stäbchens, der sporogenen B-Form (mobiler Butyricus und Putrificus, Typ des Bac. oedemat. malign. Koch-Fraenkel) als Impfmateriel zu den Desinfektionsversuchen benutzt wird. Die Wirkung des Isoktylhydrocupreins erstreckt sich also auf alle gewählten Stämme und auf alle verschiedenen Wuchsformen des Gasbrandbacillus.

Auch wenn man aus einem und demselbem Fall zwei verschiedene Wuchsformen prüft, bemerkt man keinen deutlichen Unterschied im Verhalten gegenüber den Desinfizienten, wie uns der folgende Versuch zeigt, in welchem der Stamm 144 A in der vegetativen Gärform der plumpen, unbeweglichen Stäbchen, sowie der Stamm 144 B in der sporogenen Fäulnisform der beweglichen Sporenstäbchen als Impfmateriel benutzt wurde.

Tabelle XIII.

Versuch vom 4. V. Fallende Mengen von wässriger Lösung von

1) Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum,

2) Eucupin bihydrochloricum

werden mit 1-proz. Traubenzuckerbouillon auf 1 ccm aufgefüllt, mit 0,1 ccm Impfbouillon versetzt und mit 1-proz. Traubenzuckeragar auf das Volumen 10,0 gebracht. Als Impfmateriel werden 24-stündige Traubenzucker-Bouillonkulturen von 144 A und 144 B benutzt.

1. Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum.

	144 A.	
	5. V.	6. V.
1: 10 000	0	0
1: 20 000	0	0
1: 30 000	gaslose Kolonien, eine Gasblase	mäßig Gas
1: 40 000	große Gasrisse	viel Gas
1: 60 000	viel Gas	viel Gas
1: 80 000	" "	" "
Kontrolle I	" "	" "
Kontrolle II	" "	" "

2. Eucupin bihydrochloricum.

	144 A.	
	5. V.	6. V.
1: 10 000	0	0
1: 20 000	gaslose Kolonien	etwas Gas
1: 30 000	Gasrisse	mäßig Gas
1: 40 000	große Gasrisse	viel Gas

3. Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum.

	144 B.	
	5. V.	6. V.
1:10 000	0	0
1:20 000	0	0
1:30 000	einzelne Gasblasen	etwas Gas
1:40 000	Gasrisse und zahllose gaslose Kolonien	mäßig Gas
1:60 000	ebenso	
1:80 000		viel Gas "
Kontrolle I	viel Gas	—
Kontrolle II	" "	—

4. Eucupin bihydrochloricum.

	144 B.	
	5. V.	6. V.
1:10 000	0	0
1:20 000	gaslose Kolonien und einzelne Gasblasen	mäßig Gas
1:30 000	Gasrisse	" "
1:40 000	" "	" "

Die Desinfektionswerte des Eucupins und Isoktylhydrocupreins für die vegetative Gärform und die sporogene Fäulnisform eines und desselben Falles sind also gleich. Es kann hinzugefügt werden, daß zwei spätere orientierende Hemmungsversuche in Agar (Vol. 10,0) für die Stämme 148 B und 150 B bei Verwendung von 0,5 ccm frischer Hirnkultur als Impfmaterial eine absolute Wachstumshemmung bei einer Verdünnung des Isoktylhydrocupreins von 1:20 000 ergaben. Eine Verdünnung 1:50 000 verursachte beidesmal eine Wachstumsverzögerung um 24 Stunden, während 1:100 000 unwirksam blieb.

Für unsere chemotherapeutischen Betrachtungen ist also der Gasbrandbacillus als eine Einheit anzusehen, da er in gleicher Weise von den geprüften Desinfizientien der Chininreihe beeinflusst wird und daher in einheitlicher Weise mit diesen bekämpft werden kann. Während demnach die serologischen Eigenschaften, nämlich insbesondere der für die Agglutininbildung notwendige Rezeptorenapparat der Bacillen, je nachdem diese dem vegetativen oder sporogenen Formenkreis angehören, verschieden ist, erwies sich der Chemozeptorenapparat unseren Heilmitteln gegenüber als gleichartig.

Diese Ergebnisse berechtigen uns also auch, unabhängig von einer Stellungnahme für die monistische oder pluralistische Auffassung der Gasbrandätiologie eine einheitliche, auf der Anwendung von Eucupin und Vuzin beruhende Inangriffnahme der gasbrandinfizierten Wunde zu versuchen.

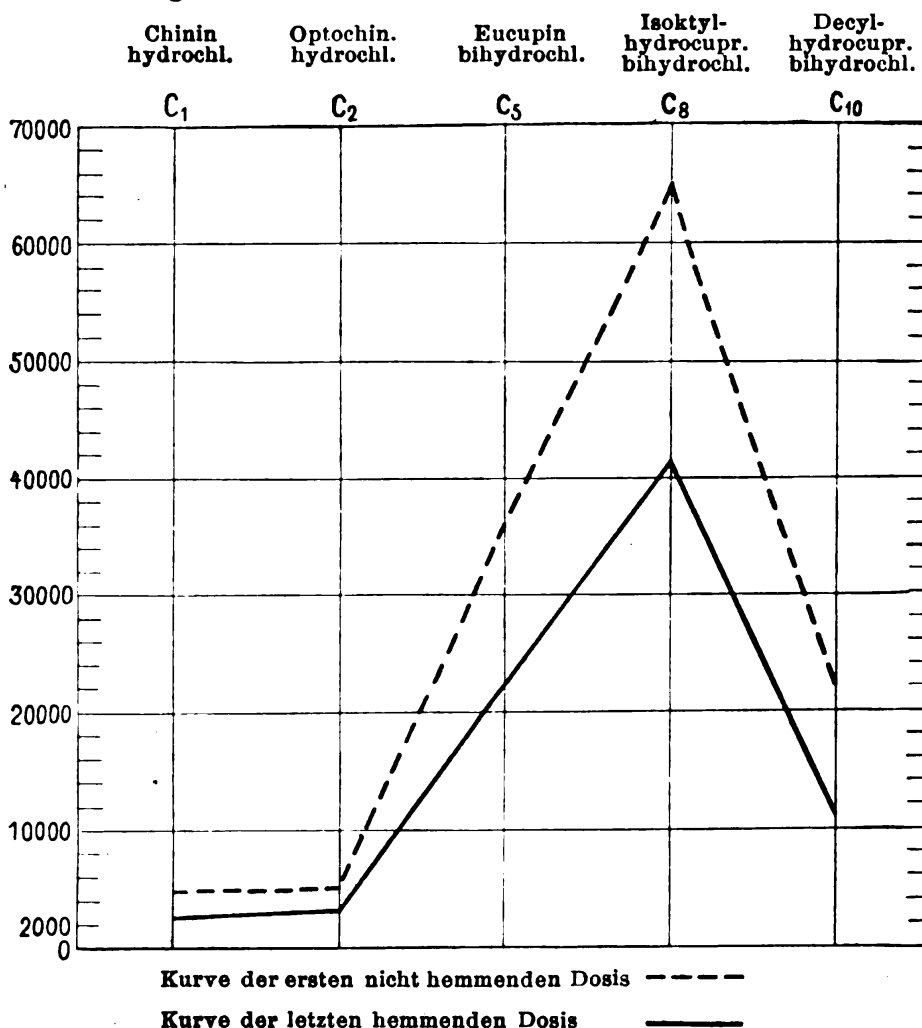
Zusammenfassend kann nunmehr auch das Ergebnis der Reihenversuche in Traubenzuckeragar mit den 12 verschiedenen Stämmen betrachtet werden, welche uns vor allem über das zahlenmäßige Verhältnis der Desinfektionsgröße des Chinins und der höheren Homologen der Hydrochininreihe orientieren. Es standen im ganzen 120 Reihenversuche mit den 12 Gasbrandstämmen zur Verfügung, welche übereinstimmend zeigten, daß die gebräuchlichsten Chinaalkaloide, Chinin und Optochin, eine absolut und relativ geringe Wirkung auf die Gasbrandbacillen ausüben. Steigt man indes vom Optochin in der homologen Reihe an, so gelangt man zu Verbindungen von einer ganz bedeutenden Hemmungswirkung, die ihr Maximum bei der Isoktylverbindung (Vuzin) erreicht, um dann bei der Decylverbindung wieder abzusinken.

Die Verhältnisse werden am besten durch die folgende Kurve erläutert, in der die Mittelwerte der in den einzelnen Versuchen als letzte hemmende und als erste nicht mehr hemmende Dosis gefundenen Verdünnungen eingetragen sind. (Kurve 1.) Der Wert für die Decylverbindung ist hier, wie bereits bemerkt, auf eine noch nicht genügende Zahl von Einzelversuchen gestützt.

Diese Kurve zeigt, daß zwar dem Eucupin (der Amylverbindung) und der Decylverbindung im Vergleich zu Chinin und Optochin recht erhebliche Hemmungswirkungen auf das Wachstum der Gasbrandbacillen zukommen, daß diese Wirkung aber noch um fast das Doppelte durch diejenige des Vuzins übertroffen wird. Gleichzeitig zeigt es sich, daß die Hemmungskonzentration des Vuzins auch im Durchschnitt die absolut sehr erhebliche Höhe von 1:40000 erreicht.

Die in den bisherigen Versuchen benutzten wässerigen Lösungen der doppelsalzsauren Salze von Eucupin und Isoktylhydrocuprein reagieren schwach sauer; sie röten Lackmuspapier, bläuen dagegen nicht Kongopapier. Wenn nun auch

Kurve 1: Ergebnisse der Gasbrandreihenversuche in Traubenzuckeragar.



die durch Verdünnungen von 1:10 000 dem Agar zugeführte Säuremenge minimal sein mag, so wäre doch unter Umständen mit einer gewissen Säureschädigung der Bacillen zu rechnen. Allerdings macht die Tatsache, daß die Gasbrandbacillen selbst in einem mit 1-prom. Salicylsäure durchspülten Muskel wachsen können, eine derartige Annahme von vornherein unwahrscheinlich. Darüber hinaus aber waren wir in

der Lage, noch festzustellen, daß auch die Base des Eucupins und Isoktylhydrocupreins, sowie das mit neutraler Reaktion lösliche chinasaure Salz die gleiche Wirkung wie das doppeltsalzsaure Salz hat. Die Desinfektionsgröße der beiden Präparate ist nur wenig geringer, wie die folgenden Versuche dartun.

Tabelle XIV.

Vergleichende Bestimmung der Wirksamkeit der doppeltsalzsauren Salze und der zugehörigen Basen des Eucupins und des Isoktylhydrocupreins auf den Gasbrandstamm 144 A in Traubenzuckeragar.

23. II. Fallende Mengen einer wässrigen 1-proz. Lösung von

- 1) Eucupin bihydrochloricum,
- 2) Eucupin basicum¹⁾,
- 3) Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum,
- 4) Isoktylhydrocuprein basicum¹⁾

werden mit 1-proz. Traubenzuckerbouillon auf 1 ccm aufgefüllt und mit 9,0 1-proz. Traubenzuckeragar auf das Volumen 10,0 gebracht. Impfmenge 0,2 ccm einer Traubenzucker-Bouillonkultur 144 A vom 17. II. 17.

1. Eucupin bihydrochloricum. 23. II.

	24. II.	26. II.
1:10 000	0	0
1:20 000	0	0
1:40 000	0	viel Gas
1:60 000	sehr viel Gas	sehr viel Gas
1:80 000	" " "	" " "
1:100 000	" " "	" " "
5 Kontrollen	" " "	" " "

2. Eucupinum basicum. 23. II.

	24. II.	26. II.
1:5000	0	0
1:10 000	0	0
1:20 000	0	einzelne große Gasblasen
1:40 000	viel Gas	sehr viel Gas
1:60 000	" "	" " "
1:80 000	" "	" " "

3. Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum. 23. II.

	24. II.	26. II.
1:10 000	0	0
1:20 000	0	0
1:40 000	0	0
1:60 000	0	0
1:80 000	0	einzelne große Gasblasen
1:100 000	4 Gasblasen	viel Gas

1) Hier wurde eine homogene Suspension der Base in Wasser verwandt, die durch Zerreiben in der Reibschale unter Zusatz von Gummi arab. hergestellt wurde.

4. Isoktylhydrocuprein basicum. 23. II.

	24. II.	26. II.
1:5000	0	0
1:10 000	0	0
1:20 000	0	0
1:40 000	0	0
1:60 000	viel Gas	sehr viel Gas
1:80 000	" "	" " "
1:100 000	" "	" " "

Tabelle XV.

Vergleichende Bestimmung der Wirksamkeit von Isoktylhydrocuprein chinicum und Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum in 1-prom. Lösungen auf Stamm 144 A in Traubenzuckeragar.

19. II. Fallende Mengen der wässerigen Lösungen werden mit 1-proz. Traubenzuckerbouillon auf 1 ccm aufgefüllt und mit 9 ccm 1-proz. Traubenzuckeragar versetzt. Impfmenge 0,1 ccm einer Traubenzucker-Bouillonkultur 144 A vom 17. II.

1. Isoktylhydrocuprein chinicum. 19. II.

	20. II.	21. II.
1:10 000	0	0
1:20 000	0	0
1:40 000	0	0
1:60 000	sehr viel Gas	
1:80 000	" " "	
1:100 000	" " "	

2. Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum. 19. II.

	20. II.	21. II.
1:10 000	0	0
1:20 000	0	0
1:40 000	0	0
1:60 000	0	0
1:80 000	sehr viel Gas	
1:100 000	" " "	
1:150 000	" " "	
4 Kontrollen	" " "	

Die Wirkung auf die Gasbrandbacillen kommt also neben dem doppeltsalzsäuren Salz auch der Base des Isoktylhydrocupreins zu. Ebenso bestehen zwischen dem Salz und der Base des Eucupins nur geringe Unterschiede in ihrer Wachstumshemmung in Traubenzuckeragar. Aus den Versuchen geht gleichfalls die Verwendbarkeit der neutral reagierenden chinasäuren Salze hervor.

Besonderes Interesse verdiente noch die als Isoktylhydrocupreinotoxin bezeichnete Verbindung, in der die Ringbindung am N aufgehoben ist; denn Versuche von Morgenroth und Bumke hatten ergeben, daß den China-

toxinen eine stärkere und raschere Wirkung auf die aëroben Wundinfektionserreger, die Strepto- und Staphylokokken, zukommt.

Beschränken wir uns auf die Besprechung vergleichender Untersuchungen der Wirkung des Isoktylhydrocupreins, das ja als wirksamstes Präparat im Vordergrund des Interesses stand, und seines zugehörigen Toxins, so ergibt sich, daß diesem letzteren keine stärkere, sondern vielmehr im allgemeinen eine schwächere Wirkung auf die Gasbrandbacillen zukommt. Die in den Versuchen, welche in Traubenzuckeragar nach der oben geschilderten Technik der sämtlichen bisher besprochenen Versuche angestellt wurden, erhaltenen Verdünnungswerte, in denen völlige Wachstumshemmung eintrat, sind mit (0) bezeichnet, die nächsthöheren, die bereits Wachstum zeigten, mit plus (+).

Tabelle XVI.

Vergleichende Bestimmung der Wachstumshemmung auf Gasbrandbacillen in Traubenzuckeragar durch

- 1) Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum,
- 2) Isoktylhydrocupreinotoxin hydrochloricum.

		Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum	Isoktylhydrocupreinotoxin
		144 A.	
1)	7. III.	1:40 000 0	1:20 000 +
		1:60 000 +	
2)	9. III.	1:70 000 0	1:100 000 0
		1:100 000 +	1:500 000 +
3)	12. III.	1:60 000 0	1:80 000 0
		1:80 000 +	1:100 000 +
4)	16. III.	1:20 000 0	1:20 000 +
		1:40 000 +	
5)	21. III.	1:100 000 0	1:100 000 0
		1:200 000 +	1:200 000 +
		148 A.	
1)	23. III.	1:40 000 0	1:10 000 0
		1:60 000 +	1:20 000 +
2)	29. III.	1:40 000 0	1:40 000 0
		1:60 000 +	1:60 000 +
		150 A.	
1)	24. III.	1:40 000 0	1:100 000 0
		1:60 000 +	1:200 000 +
2)	29. III.	1:20 000 0	1:20 000 0
		1:40 000 +	1:40 000 +

152.				
1) 24. III.	1:40 000	0	1:10 000	+
	1:60 000	+		
2) 30. III.	1:40 000	0	1:20 000	0
	1:60 000	+	1:40 000	+
155.				
1) 24. III.	1:40 000	0	1:10 000	0
	1:60 000	+	1:20 000	+
2) 30. III.	1:20 000	0	1:10 000	+
	1:40 000	+		
Charité.				
1) 16. III.	1:20 000	0	1:5000	0
	1:40 000	+	1:10 000	+
2) 19. III.	1:20 000	0	1:5000	+
	1:40 000	+		
6.				
1) 19. III.	1:20 000	0	1:10 000	0
	1:40 000	+	1:20 000	+
126.				
1) 7. III.	1:20 000	0	1:20 000	+
	1:40 000	+		
2) 9. III.	1:20 000	0	1:10 000	+
	1:30 000	+		
3) 15. III.	1:60 000	0	1:10 000	0
	1:80 000	+	1:20 000	+
4) 21. III.	1:80 000	0	1:20 000	0
	1:100 000	+	1:40 000	+

Die Betrachtung der in der Tabelle in 20 vergleichenden Versuchen gefundenen Werte ergibt, daß nur 3mal das Isoktylhydrocupreinotoxin dem Isoktylhydrocuprein überlegen war und daß nur 3mal die Werte für beide Präparate ungefähr gleich waren. In den übrigen 14 Versuchen war das Toxin das teilweise bei weitem weniger wirksame Präparat. Besonders bei dem Stamme Charité wurden in den beiden Versuchsreihen nur recht schwache Wachstumshemmungen mit dem Isoktyltoxin erzielt. Ueberhaupt hat es beim Durchsehen der Versuche den Anschein, als ob besonders bei den sporogenen Stämmen (152 bis Schluß der Tabelle) der Unterschied zu Ungunsten der Toxine besonders stark sei, während dessen wachstumshemmende Wirkung auf die vegetativen Formen der Stämme 144 A, 148 und 150 im Durchschnitt sogar besser ist als die des Isoktylhydrocupreins.

Da nun den vegetativen Formen der Gasbrandbacillen für den Ablauf der Erkrankung die wichtigste Rolle zukommt,

so wäre damit zu rechnen gewesen, daß sich im Tierversuch auch das Isoktylhydrocupreinotoxin besonders bewährt hätte. Wir werden später sehen, daß dies nicht der Fall ist.

Es liegt in der Natur der im vorausgehenden gewählten Versuchsanordnung, daß nur die entwicklungshemmende Wirkung der untersuchten Verbindungen zum Ausdruck kommt. Ob darüber hinaus eine Abtötung der Gasbrandbacillen stattfand, ließ eine derartige Versuchsanordnung nicht mit Sicherheit erkennen. Vielmehr dienten dem Nachweis der abtötenden Wirkung des Isoktylhydrocupreins auf die Gasbrandbacillen die folgenden Versuche.

Tabelle XVII.

Versuch vom 29. III. Je 0,5 ccm steigender Verdünnungen einer wässerigen Lösung von Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum werden mit 0,5 ccm Kultur versetzt und mit 1-proz. Traubenzuckerbouillon auf das Volumen 2,0 gebracht. In der so entstandenen Verdünnung des Alkaloids bleiben die Gasbrandbacillen 22 Stunden im Brutschrank ohne Luftabschluß. Darauf werden aus den Verdünnungen 1, 2 und 3 je 0,5 ccm mit Traubenzuckerbouillon auf die unwirksame Konzentration des Isoktylhydrocupreins von 1:200 000 verdünnt, mit Paraffin überschichtet und in den Brutschrank gebracht. Von Verdünnung 4 werden 2 ccm mit 6 ccm Traubenzuckerbouillon ebenso auf die Oktylkonzentration 1:200 000 verdünnt.

Als Kontrollen dienen 2 Röhrchen, in denen 0,5 ccm Kultur mit 1,5 ccm Traubenzuckerbouillon 24 Stunden im Brutschrank ohne Ueberschichtung gehalten werden, worauf 0,5 ccm, in 10 bzw. 100 ccm Traubenzuckerbouillon verbracht und überschichtet, bebrütet werden; Impfmateriale Stamm 144 A vom 28. III. und 126 vom 28. III.

Nach demselben Verfahren wird am 3. IV. ein Versuch mit Stamm 148 vom 28. III. angesetzt. Das Ergebnis der drei Einstellungen zeigt die folgende Zusammenstellung.

144 A.

29. III. Beginn der Einwirkung des Isoktylhydrocupreins.

30. III. Prüfung „ „ „ „

Prüfung der Wirkung

Geprüfte Verdünnung	Kultur in Traubenzuckerbouillon	31. III.	1. IV.	2. IV.
1) 1:1000	0,5 in 100	klar	klar	klar
2) 1:5000	0,5 in 20	„	„	„
3) 1:10 000	0,5 in 10	„	„	„
4) 1:50 000	2,0 in 8	trüb, Gas	„	„
			grampositive, plumpe, unbewegl. Stäbchen	
Kontrolle 1	0,5 in 100	trüb, viel Gas	dgl.	dgl.
Kontrolle 2	0,5 in 10	„ „ „	„	„

126 B.

29. III. Beginn der Einwirkung des Isoktylhydrocupreins.

30. III. Prüfung „ „ „ „

Prüfung der Wirkung

Geprüfte Verdünnung	Kultur in Traubenzuckerbouillon	31. III.	1. IV.	2. IV.
1) 1:1000	0,5 in 100	klar	klar	trüb durch Kokken
1a) 1:1000	0,5 in 100	„	„	klar
2) 1:5000	0,5 in 20	„	„	„
2a) 1:5000	0,5 in 20	„	„	„
3) 1:10 000	0,5 in 10	„	„	„
3a) 1:10 000	0,5 in 10	„	„	„
4) 1:50 000	2,0 in 8	trüb, Gas	schlanke, teils bewegliche Stäbchen	ohne Sporen
4a) 1:50 000	2,0 in 8	„ „	„	„
Kontrolle 1	0,5 in 100	„ „	kleine bewegliche Stäbchen und Sporenstäbchen	dgl.
	0,5 in 10	„ „	„	„
Kontrolle 2	0,5 in 100	„ „	„	„
	0,5 in 10	„ „	„	„

148.

3. IV. Beginn der Einwirkung des Isoktylhydrocupr. bihydrochloric.

4. IV. Prüfung „ „ „ „

Prüfung der Wirkung

Geprüfte Verdünnung	Kultur in Traubenzuckerbouillon	5. IV.	6. IV.	7. IV.
1) 1:1000	0,5 in 100	Trübung	aërobe Verunreinigung	
1a) 1:1000	0,5 in 100	klar	klar	klar
2) 1:5000	0,5 in 20	„	„	„
2a) 1:5000	0,5 in 20	„	„	„
3) 1:10 000	0,5 in 10	„	„	„
3a) 1:10 000	0,5 in 10	„	„	„
4) 1:50 000	2,0 in 8	„	leicht trüb	plumpe, unbewegliche grampositive Stäbchen
4a) 1:50 000	2,0 in 8	leicht trüb	trüb, Gas	
Kontrolle 1	0,5 in 100	klar	„ „	dgl.
	0,5 in 10	trüb, Gas	„ „	„
	0,5 in 10	„ „	„ „	„

Diese Versuche zeigen, daß bei den 3 untersuchten Stämmen, von denen der eine stets reichlich Sporen bildete, durch 24-stündige Einwirkung einer Lösung von Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum 1:10 000 in Traubenzuckerbouillon die Abtötung der Keime gelingt, während in einer Verdünnung 1:50 000 entwicklungsfähige Bacillen sich halten können. Dem

doppeltsalzsauren Salz der Isoktylverbindung kommt also eine sehr starke abtötende Wirkung zu.

Ob die oben angeführten Hemmungswerte (im Durchschnitt 1 : 40 000) mit den Abtötungswerten zusammenfallen, läßt sich durch diese Versuche nicht entscheiden, da die Einstellung in der kritischen Zone nicht fein genug ist; jedenfalls darf man auf Grund der Versuche annehmen, daß dieselben nicht sehr weit auseinanderliegen werden.

Hiermit ist jedoch die Wirksamkeit des Isoktylhydrocupreins keineswegs erschöpft. Betrachtet man vielmehr in den einzelnen bewachsenen Röhrchen der Agarversuche die Menge des gebildeten Gärgases, so bemerkt man, daß diese mit steigender Verdünnung allmählich bis zur Kontrolle zunimmt. Bei Konzentrationen, die sich der wachstumshemmenden nähern, beginnt weiterhin die Gasbildung mit starker Verzögerung, ja sie bleibt sogar völlig aus, obwohl es noch zur Bildung der charakteristischen, asbestflockenartigen Kolonien kommt. Zwischen der wachstumshemmenden und der völlig unwirksamen Konzentration liegt also eine Zone, in der die Gasbildung entweder überhaupt unterdrückt wird oder doch für lange Zeit hinausgezögert und dann noch quantitativ herabgesetzt wird. Während diese Unterschiede in der Menge der Gasbildung bei allen unseren Versuchen stets deutlich waren, kam die Ausbildung einer Zone, in der die Gasbrandbacillen zwar wachsen, aber kein Gas bilden können, bei der zumeist gewählten groben Einstellung nicht immer deutlich zustande.

In den 16 Reihenversuchen mit Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum, welche eine solche Zone zeigten, begann die Gärgasbildung durchschnittlich erst bei Verdünnungen über ca. 1 : 60 000, während die absolute Hemmungsdosis durchschnittlich bei ca. 1 : 40 000 liegt. Dasselbe gilt auch für die übrigen Chinaalkaloide. So ist z. B. der Wert für die letzte hemmende Dosis bei Isoktylhydrocupreinotoxin in 10 Reihenversuchen, in denen eine gaslose Wachstumszone hervortrat, 1 : 38 000, die Grenze für das gaslose Wachstum dagegen liegt erst bei 1 : 50 000. Eine Verdünnung von 1 : 40 000 von Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum und 1 : 38 000 von Isoktyl-

hydrocupreinotoxin verhindert in Traubenzuckeragar noch jedes Wachstum, die darüberliegenden Verdünnungen von 1:62 000 bzw. 1:51 000 zwar nicht mehr das Wachstum, aber doch die Gasbildung. Eine wenn auch zuerst noch schwächere Gasbildung ist den Gasbrandbacillen erst in Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum-Konzentrationen über 1:60 000 und in Isoktylhydrocupreinotoxin-Konzentrationen über 1:50 000 möglich.

Wir sehen also, daß die abtötende Wirkung der höheren Homologen der Chininreihe auf die Gasbrandbacillen noch übertroffen wird durch ihre gärungshemmende Wirkung. In Konzentrationen, die zwar nicht mehr das Wachstum verhindern können, wird dennoch das Gärferment der Bacillen gelähmt. Da nun aber gerade bei der Kohlehydratzersetzung jene Gifte gebildet werden, welche sowohl für das Zustandekommen der Gasbrandinfektion beim Menschen, wie auch für die rasche Progression und den foudroyanten Verlauf der Krankheit verantwortlich gemacht werden müssen, so ist diese starke, die Hemmungswirkung noch übertreffende fermentlähmende Kraft des Isoktylhydrocupreins gegenüber den Gasbrandstämmen von besonderer Bedeutung für das Zustandekommen seiner Schutzwirkung im infektionsempfänglichen Tier.

Nachdem so der Nachweis gelungen war, daß die Abtötung der Gasbrandbacillen mit schwachen Konzentrationen des Isoktylhydrocupreins gelingt, war nun noch weiterhin zu untersuchen, ob nicht eine rasche Gewöhnung der Bacillen an das Heilmittel stattfindet, die Stämme fest werden, so daß sie auch in stärkeren Konzentrationen nicht mehr angegriffen werden.

Zu diesem Zwecke wurden 4 Gasbrandstämmen fortlaufend untersucht, und zwar so, daß sie in einem 20 Proz. Ascites enthaltenden 1-proz. Traubenzuckeragar unter Zusatz von fallenden Mengen Isoktylhydrocuprein zweimal 24 Stunden gezüchtet wurden und dann von den ersten, gut bewachsenen Röhrchen wieder eine neue Reihe angelegt wurde. Dabei zeigte sich nun, daß bei keinem der untersuchten Stämme die Empfindlichkeit gegen das Heilmittel abnahm.

Tabelle XVIII.

Festigungsversuch mit Stamm Charité.

25. IV. 17.

Es werden zu dem Versuch Kulturen in Traubenzuckerbouillon (1-proz.) verwendet. 1 ccm der gut bewachsenen Bouillon wurde zunächst zu 20 ccm Ascitesflüssigkeit zugesetzt. Von dieser beimpften Ascitesflüssigkeit wurden wiederum je 2 ccm zu 8 ccm Traubenzuckeragar, mit welchen die wechselnden Verdünnungen des Alkaloids hergestellt waren, zugefügt und vor dem Erkalten gut durchgeschüttelt. Gesamtvolum = 10 ccm. Zu den Versuchen wurde stets Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum verwendet.

Beobachtung des Wachstums nach 1 und 2 Tagen.

Verdünnungen	1. Tag	2. Tag
1) 1:10 000	0	0
2) 1:15 000	0	0
3) 1:20 000	0	0
4) 1:30 000	0	0
5) 1:60 000	einzelne große Gasblasen	Gasrisse und Gasblasen
Kontrolle	viel Gas	

28. IV.

Das Röhrchen 5 des Versuches vom 25. IV. wird als Impfmateriel für eine neue Reihe benutzt. Die durch die Gasbildung ausgequetschte Flüssigkeitsmenge und eine Abschwemmung des verkleinerten Agars mit Bouillon dient zur Impfung. Technik des Versuches wie oben.

Ablesung nach 48 Stunden bei 38°.

Verdünnungen	2. Tag
1) 1:5000	0
2) 1:7500	0
3) 1:10 000	0
4) 1:15 000	eine große Einzelkolonie und eine kleine Gasblase
5) 1:20 000	sehr viel Gas
6) 1:30 000	" " "
Kontrolle	" " "

30. IV.

Impfmateriel, gewonnen von Röhrchen 5 des Versuches vom 28. IV.

Beobachtung des Wachstums nach 1 und 2 Tagen.

Verdünnungen	1. Tag	2. Tag
1) 1:10 000	0	0
2) 1:20 000	0	0
3) 1:30 000	0	0
4) 1:40 000	0	0
Kontrolle	mäßig Gas	viel Gas

3. V.

Impfmateriel von Kontrollröhrchen des Versuches vom 30. IV.
Ablesung des Wachstums nach 24 Stunden.

1) 1:25 000	0
2) 1:30 000	0
3) 1:50 000	mäßig Gas
4) 1:80 000	sehr viel Gas
Kontrolle	„ „ „

5. V.

Impfmateriel vom Röhrchen 3 des Versuches vom 3. V.
Beobachtung des Wachstums nach 24 und 48 Stunden.

	24 Std.	48 Std.
1) 1:30 000	0	0
2) 1:40 000	0	0
3) 1:50 000	0	0
4) 1:60 000	Gasblasen und eine gaslose Kolonie	viel Gas
5) 1:70 000	viel Gas	
Kontrolle	sehr viel Gas	

8. V.

Impfmateriel von Röhrchen 4 des Versuches vom 5. V.
Ablesung des Wachstums nach 24 und 48 Stunden.

	9. V.	10. V.
1) 1:40 000	0	0
2) 1:50 000	0	0
3) 1:60 000	viel Gasbläschen und gaslose Kolonien	viel Gas
4) 1:70 000	mäßig Gas	sehr viel Gas
Kontrolle	sehr viel Gas	

Im Verlauf von 6 Reihenversuchen hat also, abgesehen von einer vorübergehenden Schwankung in der zweiten Versuchsreihe, die Empfindlichkeit des Stammes gegen das Isoktylhydrocuprein nicht abgenommen. Die letzte hemmende Verdünnung liegt in Reihe 1 und 2 bei 30 000 bzw. 1:10 000, in den folgenden Reihen liegt sie über 1:30 000, ja zumeist über 1:50 000. Die Empfindlichkeit des Stammes hat also unter völlig gleichbleibenden äußeren Bedingungen nicht abgenommen.

Ganz ähnlich verliefen die Versuche mit den übrigen Stämmen 144 A, 152, 155, die in der gleichen Weise angelegt wurden. Ueber die Ergebnisse der Versuche belehrt die folgende Zusammenstellung.

Tabelle XIX.

No.	Datum	Letzte wachstums- hemmende Verdünnung	Erste nicht mehr total hemmende Verdünnung	Ungehemmtes Wachstum- u. Impfmateri- al für die folgende Reihe	Ablesung nach .
Stamm 144 A.					
1)	25. IV.	1:75 00	1:10 000	1:30 000	2 Tagen
2)	28. IV.	1:15 000	1:20 000	1:30 000	2 "
3)	30. IV.	1:40 000		Kontrolle	2 "
4)	3. V.	1:30 000	1:50 000	1:50 000	1 Tag
5)	5. V.	1:30 000	1:50 000	—	2 Tagen
Stamm 152.					
1)	26. IV.	1:15 000	1:20 000	1:40 000	2 Tagen
2)	28. IV.	1:15 000	—	1:20 000	2 "
3)	30. IV.	1:40 000	—	Kontrolle	2 "
4)	3. V.	1:25 000	1:30 000	1:50 000	1 Tag
5)	5. V.	1:20 000	1:30 000	1:50 000	2 Tagen
6)	8. V.	1:30 000	1:40 000	—	2 "
Stamm 155.					
1)	26. IV.	1:7500	1:10 000	1:30 000	2 Tagen
2)	28. IV.	1:15 000	1:20 000	1:20 000	2 "
3)	1. V.	1:40 000	—	Kontrolle	1 Tag
4)	3. V.	1:30 000	—	1:50 000	1 "
5)	5. V.	1:60 000	—	1:70 000	2 Tagen
6)	8. V.	1:30 000	1:40 000	—	2 "

Die Anfangswerte für die Hemmung in Ascitesagar, welche bei 2 Stämmen 1:7500 betragen, sind auffallend und von allen anderen Erfahrungen abweichend. Offenbar fanden hier besondere Einflüsse statt, die uns noch nicht näher bekannt sind, und die für kurze Zeit zur Geltung kommen, wenn die Stämme aus Traubenzuckeragar in Ascites-Traubenzuckeragar übergeführt werden. Auch bei diesen 3 Stämmen 144 A, 152 und 155 tritt also im Verlauf von 5 bis 6 Reihen eine Festigung gegen das Isoktylhydrocuprein nicht ein, ja im Gegenteil: auch hier werden die Stämme, ebenso wie dies bereits in dem ersten Versuch der Fall war, eher noch empfindlicher gegen das Chinaalkaloid.

Da also selbst bei tagelanger Fortzüchtung innerhalb eines isoktylhydrocupreinhaltigen Mediums die Empfindlichkeit der Gasbrandbacillen für dieses Heilmittel keineswegs abnimmt, so braucht wohl auch bei der kurzdauernden Ein-

wirkung im Körper mit einer Festigung der Bakterien nicht gerechnet zu werden.

Die vorstehenden Festigungsversuche wurden, wie erwähnt, in einem Traubenzuckeragar mit einem Gehalt von 20 Proz. Ascitesflüssigkeit ausgeführt. Die Tabellen zeigen, daß der Eiweißgehalt des Mediums eine hemmende Wirkung nicht oder höchstens in geringem Grade ausübt.

Wir hatten nun auch eine größere Anzahl von Reagenzglasversuchen ausgeführt, in welcher als Zusatz nicht nur eiweißhaltige Flüssigkeit, sondern defibriniertes Blut verwendet wurde. Diese Versuche stellen nur den Anfang für weitere Studien dar, die auf den Einfluß der Blutkörperchen als solcher gerichtet sind.

Die relativ starke hämolytische Wirkung der höheren Homologen — auf die an anderer Stelle eingegangen werden soll — ließ eine starke Affinität dieser Verbindungen zu den Erythrocyten voraussetzen und vermuten, daß diese besonders mit den Bakterien in einen Wettbewerb um das chemotherapeutische Agens treten könnten. Die Verhältnisse liegen hier kompliziert und bedürfen weiterhin noch einer eingehenden Analyse auch auf Grund der Versuche von Morgenroth und Ginsberg über die Transgression der Chinaalkaloide von Erythrocyten in andere Gewebszellen.

Zu den Versuchen wählten wir einen Traubenzuckeragar, dem 1:5 defibriniertes Ziegenblut zugesetzt war. Dieser Nährboden hatte zwar den Nachteil, daß die Tiefenkolonien nicht sichtbar sind, ließ aber in der Abschätzung der gebildeten Gasmenge eine bequeme Beurteilung auch des quantitativen Effektes der zu prüfenden Alkaloide zu.

Zu je 2 ccm Ziegenblut wird 0,1 ccm der Bouillonkultur des Gasbrandbacillus gegeben und dann 8 ccm Traubenzuckeragar, der die Verdünnungen des Alkaloids enthält, zugefügt, so daß das Gesamtvolum 10 ccm beträgt. Dabei tritt in den stärkeren Konzentrationen Hämolyse ein, die bei Eucupin bis 1:5000, bei Oktylverbindung bis etwa 1:10 000 geht.

Bei diesen Versuchen beschränkten wir uns auf die Prüfung der doppelsalzsauren Salze des Eucupins und des Isoktylhydrocupreins, sowie der beiden zugehörigen Toxine.

Zur Erläuterung der Versuchstechnik seien folgende Protokolle angeführt:

Tabelle XX.

Vergleichende Bestimmung der Wirksamkeit der doppelt salzsauren Salze mit zugehörigen Toxinen des Eucupins und Isoktyls in bluthaltigem Nährboden auf die Gasbrandstämme.

148 A am 29. III. und 152 am 30. III.

Fallende Mengen einer wässrigen Lösung von

1. Eucupin bihydrochloricum,
2. Eucupinotoxin,
3. Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum,
4. Isoktylhydrocupreinotoxin.

Impfmaterial: Traubenzuckerbouillonkultur Stamm 148 A und 152 vom 29. III.

Stamm 148 A.

A. Ziegenbluttraubenzuckeragar.

1. Eucupin bihydrochloricum.

	30. III.	1. IV.
1:1000	0	0
1:5000	0	0
1:7500	0	0
1:10 000	etwas Gas	mäßig Gas
1:20 000	sehr viel Gas	sehr viel Gas
1:40 000	" " "	" " "

2. Eucupinotoxin.

	30. III.	1. IV.
1:1000	0	0
1:5000	0	0
1:7500	wenig Gas	viel Gas
1:10 000	viel Gas	" " Gas
1:20 000	sehr viel Gas	sehr viel Gas

3. Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum.

	30. III.	1. IV.
1:10 000	0	0
1:20 000	0	0
1:40 000	sehr viel Gas	sehr viel Gas
1:60 000	" " "	" " "

4. Isoktylhydrocupreinotoxin.

	30. III.	1. IV.
1:1000	0	0
1:5000	ein Gasriß	sehr viel Gas
1:7500	0	0
1:10 000	0	etwas Gas
1:20 000	sehr viel Gas	sehr viel Gas
1:40 000	" " "	" " "
Kontrolle 1	" " "	" " "
Kontrolle 2	" " "	" " "

B. Traubenzuckeragar.

3. Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum.

	30. III.	1. IV.
1:20 000	0	0
1:40 000	0	0
1:60 000	0	ein Gasriß
1:80 000	0	" "
1:100 000	viel Einzelkolonien, 2 Gasbläschen	mehrere Gasblasen
1:200 000	viel Einzelkolonien, Gasrisse	" "
Kontrolle 1	mäßig Gas	mäßig Gas
Kontrolle 2	" "	" "

4. Isoktylhydrocupreinotoxin.

	30. III.	I. IV.
1:20 000	0	0
1:40 000	0	0
1:60 000	0	ein Gasriß
1:80 000	0	mehrere Gasrisse
1:100 000	Einzelkolonien	" "

Stamm 152.

A. Ziegenbluttraubenzuckeragar.

1. Eucupin bihydrochloricum.

	31. III.	1. IV.	2. IV.
1:5000	0	0	0
1:7500	0	0	0
1:10 000	0	0	sehr viel Gas
1:20 000	0	sehr viel Gas	" " "
1:40 000	mäßig Gas	" " "	" " "

2. Eucupinotoxin.

	31. III.	1. IV.	2. IV.
1:5000	0	0	0
1:7000	0	0	0
1:10 000	0	0	0
1:20 000	Gasbläschen	sehr viel Gas	
1:40 000	etwas Gas	" " "	
1:60 000	sehr viel Gas	" " "	

3. Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum.

	31. III.	1. IV.	2. IV.
1:5000	0	0	0
1:7500	0	0	0
1:10 000	0	0	0
1:20 000	0	0	0
1:40 000	0	sehr viel Gas	
1:60 000	einzelne Gasbläschen	" " "	
1:80 000	mäßig Gas	" " "	

4. Isoktylhydrocupreinotoxin.

	31. III.	1. IV.	2. IV.
1:5000	0	0	0
1:7500	0	0	0
1:10 000	0	0	0
1:20 000	0	sehr viel Gas	
1:40 000	0	" " "	
1:60 000	mäßig Gas	" " "	
1:80 000	" " "	" " "	
2 Kontrollen	sehr viel Gas	" "	

B. Traubenzuckeragar.

3. Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum 30. III.

	31. III.	1. IV.	2. IV.
1:20 000	0	0	0
1:40 000	0	0	0
1:60 000	0	0	Einzelkolonien
1:80 000	0	Einzelkolonien	etwas Gas
1:100 000	gaslose Kolonien	viel Gas	
1:200 000	viel Gas	sehr viel Gas	
Kontrolle	sehr viel Gas		

4. Isoktylhydrocupreinotoxin.

	31. III.	1. IV.	2. IV.
1:10 000	0	0	0
1:20 000	0	0	0
1:40 000	1 Einzelkolonie	1 Einzelkolonie	mäßig Gas
1:60 000	0	0	" "
1:80 000	0	2 Einzelkolonien	" "
1:200 000	viel Gas	sehr viel Gas	sehr viel Gas

Es folgt noch ein vergleichender Versuch mit Stamm 144 A und 144 B auf Ziegenblutagar, in welchem die Wirkung auf A schwächer erscheint als auf B.

Tabelle XXI.

Ziegenblut.

1. Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum.

144 A. 4. V.

	5. V.	6. V.
1:5000	0	0
1:7500	0	0
1:10 000	0	0
1:20 000	0	etwas Gas
1:30 000	0	sehr viel Gas
1:40 000	sehr viel Gas	" " "
1:60 000	" " "	" " "
Kontrolle	" " "	

2. Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum.

	144 B.	
	5. V.	6. V.
1: 5000	0	0
1: 7500	0	0
1: 10 000	0	0
1: 20 000	0	0
1: 30 000	viel Gas	sehr viel Gas
1: 40 000	sehr viel Gas	" " "
Kontrolle	" " "	

Es ergibt sich aus diesen Versuchen, daß in Ziegenblutagar die Wirkung der Isoktylverbindung nicht unerheblich zurückgeht. Doch muß betont werden, daß auch bei dieser Versuchsanordnung das Isoktylhydrocuprein das Eucupin an Wirkungsstärke weit übertrifft. Zahlreiche Versuche mit den übrigen Stämmen bestätigten dieses Ergebnis. Auch hier wieder erschwert, wie bei den angeführten Versuchen in Ascitesagar, das Moment der plötzlichen Veränderung des Nährbodens die Deutung der Versuche. Doch dürfte bei der Verminderung der Wirkung in dem Blutnährboden die Affinität des Isoktylhydrocupreins zu den Erythrocyten, die sich ja schon zum Teil in der in den obigen Versuchen demonstrierten Hämolyse zeigte, vielleicht von Bedeutung sein. Da diesen Beziehungen, abgesehen von ihrem erwähnten theoretischen Interesse, für die Frage der praktischen Gasbrandprophylaxe vielleicht Bedeutung zukommen kann, so soll an der Hand einiger Versuche noch kurz darauf eingegangen werden.

Um die Affinität zu den roten Blutkörperchen und anderen Körperzellen zu demonstrieren, haben wir eine Reihe von Versuchen mit Agarkeilen unternommen. Die Technik des Keilversuches, welcher uns in geeigneter Anwendung eine einfache Methode vergleichender Messung der Organotropie der Chinaalkaloide untereinander, sowie gegen verschiedene Körpersubstanzen zu liefern imstande ist, sei hier nur insoweit besprochen, als es zur Erläuterung des Folgenden nötig erscheint.

Bringt man nämlich ein keilförmiges Stück Agar von 12—20 cm Länge, dessen dünnste Stelle etwa 2 mm, dessen dickste Stelle etwa 20 mm dick ist, an der einen Seite in innigsten Kontakt mit einer Lösung von Isoktylhydrocuprein in Agar, so daß man diese Keilseite flach auf eine

Agarschicht legt, die das Alkaloid enthält, und beimpft dann die andere geneigte Oberfläche mit einem Pneumococcus, Staphylococcus oder Streptococcus, so muß das Heilmittel, um das Wachstum auf der Oberfläche zu verhindern, zuerst durch eine verschieden dicke Agarschicht durchdringen. Dort, wo eine genügende Menge durch die zwischen Heilmittel und Bakterium eingeschaltete Masse hindurchgehen kann, wird das Wachstum verhindert, während die dickeren Teile des Keiles die Impfmasse auf der Oberfläche vor der Einwirkung des Heilmittels schützen. Tatsächlich sieht man denn auch am folgenden Tag, daß an den dicksten Stellen des Keiles der Impfstich dicht bewachsen ist, während an den dünneren Stellen kein Wachstum eingetreten ist. Die Anwendung des Keiles erlaubt es uns, den nur einige Millimeter betragenden Aktionsradius des Heilmittels in Agar gut zu messen und mit großen Ausschlägen zu bestimmen. Dieser Versuch dient dann, ohne daß dabei die Frage nach der Natur und der Bedeutung der in dem Agarkolloid beim Zusammentreffen mit den Chinaalkaloiden stattfindenden Ausfällungen hier angeschnitten zu werden braucht, als Grundlage in einem Vergleichsversuch zur Bestimmung der Verminderung des Aktionsradius in Agar durch Zusatz von Zellen. Mischt man nämlich zu dem Agarkeil rote Blutkörperchen zu, so wird man aus der Tatsache, daß die unbewachsene Keillänge sich vermindert, den Schluß ableiten können, daß die zwischen Heilmittel und Bakterien zwischengeschalteten Zellen dem Chinaalkaloid ein vermehrtes Hindernis bilden müssen. Die Stärke der Verminderung des Aktionsradius eines Heilmittels in Agar durch Zusatz von Zellen, der sich leicht zahlenmäßig durch die Bestimmung der Differenz der unbewachsenen Keillängen bestimmen läßt, gibt dann ein Maß für die Größe der durch das zugefügte Hindernis ausgeübten Absorption, der Organotropie des Heilmittels. Der unbekannte Faktor der Reaktionsgröße mit dem Agar dagegen fällt aus den beiden Vergleichsversuchen als gleich groß aus.

Aus äußeren Gründen war es zurzeit unmöglich, diese Keilversuche in größerem Umfang durchzuführen, insbesondere auch die vergleichende Bestimmung der Organotropie zu den roten Blutkörperchen für die verschiedenen Glieder der Hydrochininreihe zu Ende zu führen. In dieser Richtung werden die Versuche noch fortgesetzt werden. Wir schildern daher im folgenden lediglich zwei Versuche, welche zeigen, welch ein starkes Hindernis rote Blutkörperchen als Prototyp von Körperzellen, sowie gekochter Hirnbrei, der als denaturiertes Gewebe der bequemen Handhabung wegen nur zu mehr orientierenden Versuchen benutzt werden konnte, einer Tiefenwirkung des Isoktylhydrocupreins in den Weg legen.

In eine große Petrischale wird eine dünne Schicht eines Agars gegossen, welcher 1 Proz. Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum enthält.

Für die überschichtenden Blutagarkeile wird ein Blutagar benutzt, der sich aus Ragitar Merck (70 g Pulver + 1000 g Wasser) und Ziegenblutkörperchen zusammensetzt. Auf 75 ccm Agar kommen 10 ccm Sediment von 40 ccm defibriniertem Ziegenblut.

Um im Vergleichsversuch auch die Wirkung des Serums auszu-schalten, werden Serumagarkeile hergestellt, der sich aus dem üblichen Ragitar und einem Teil des abzentrifugierten Ziegenblutserums 1:100:12 zusammensetzt.

Länge des Blutkeils	130 mm
größte Dicke des Blutkeils	6 „
kleinste Dicke des Blutkeils	2 „
Länge des Serumkeils	140 „
größte Dicke des Serumkeils	7 „
kleinste Dicke des Serumkeils	2 „

Die Keile werden beimpft mit Streptococcus Zick (hämolytischer Streptococcus longus). 9. V. 17.

Ablesung nach 18 Stunden bei 38°:

1. Blutkeil total bewachsen,
2. Serumkeil: unbewachsene Länge 70 mm,
„ Dicke 5 mm.

Das Isoktylhydrocuprein kann also durch eine 5 mm dicke Schicht von Serumagar hindurchdringen, so daß es das Wachstum der aufgeimpften Streptokokken verhindert. Zusatz von roten Blutkörperchen dagegen bildet für das Chinaalkaloid ein derartig großes Hindernis, daß selbst eine 2 mm dicke Schicht noch einen sicheren Schutz der Kokken gegen seine Wirkung darstellt. Die unbewachsene Länge des Keils vermindert sich dementsprechend beträchtlich.

Daß es sich dabei nicht einfach um die Wirkung des Eiweißzusatzes handelt, beweist der Vergleichskeil, der reichlich Serum enthält. Es muß daher angenommen werden, daß die Hemmungsverstärkung auf den Einfluß der zugesetzten zelligen Elemente zu setzen ist, die Verminderung des Aktionsradius des Isoktylhydrocupreins in Agar durch rote Blutkörperchen demonstriert also die Bindungsgröße der Erythrocyten für das verwandte Chinaalkaloid.

Ein gleichartiges Resultat ergibt der folgende Versuch vom 10. V., bei dem außer roten Blutkörperchen und Serum Gehirnbrei dem Agar der Keile zugemischt wird.

Gehirnagarkeile werden folgendermaßen hergestellt:

3 g Stangenagar in 55 ccm Wasser gelöst und zu 150 g Fickerschem Hirnnährboden zugesetzt.

Herstellung der Blut- und Serumkeile wie im Versuch vom 9. V. 1917.

Je einer der 3 Keile auf Isoktylagar 1 Proz.

Nach 24-stündigem Verweilen im Brutschrank werden die Keile beimpft mit *Staphylococcus aureus*.

	Gehirnkeile	Blutkeile	Serumkeile
Länge	145 mm	139 mm	140 mm
größte Dicke	12 "	12 "	12 "
kleinste Dicke	3 "	2 "	3 "

Beobachtung des Wachstums nach 24-stündiger Bebrütung bei 38°:

	Gehirnkeile	Blutkeile	Serumkeile
unbewachsene Länge	völlig bewachsen	39 mm	75 mm
" Dicke	" "	ca. 2 "	ca. 5 "

Auch hier ist wiederum der Aktionsradius des Isoktylhydrocupreins von 5 mm in Serumagar auf etwa 2 mm in Blutagar zurückgegangen. Auch der Zusatz von Gehirnmasse zum Agar hat sich als ein starkes Hindernis für die Tiefenwirkung des Chinaalkaloids erwiesen. Da jedoch einmal eine genaue Bestimmung der zugesetzten Mengen von Gehirn und Blut versäumt wurde, so konnte in diesem orientierenden Versuch ein Vergleich der Hemmungswirkung der beiden Substanzen nicht durchgeführt werden.

Nachdem nun weitere Versuche ergeben hatten, daß die Hemmung des Wachstums der aufgeimpften Kultur sich auch dort noch geltend macht, wo an der Oberfläche des Keils keine Veränderungen der roten Blutkörperchen im Agar mehr sichtbar sind, so ergab sich, daß auch unabhängig von der eintretenden Hämolyse die Zwischenschaltung von roten Blutkörperchen zwischen Heilmittel und *Bacillus* das erstere binden kann und so den Mikroorganismus vor seiner Wirkung schützt.

Anhangsweise sei hier noch über Versuche berichtet, welche zeigen, daß die Wirkung der Chinaalkaloide keineswegs mit den physikalischen Schädigungen in Parallele gesetzt werden kann. Es ist bekannt, daß die Sporenformen des Gasbrandbacillus gegen Siedehitze sehr widerstandsfähig sind, während die vegetativen Formen leicht abgetötet werden. Dasselbe differente Verhalten gilt auch gegenüber der Wirkung der ultravioletten Strahlen. Aus der kurzen Mitteilung von

Ernst Fraenkel, Frankenthal und Königsfeld¹⁾ ergibt sich bereits, daß die künstliche Höhensonne in Gestalt der Quarzlampe Gasbrandbacillen — und es wurden offenbar sporenhaltige Kulturen verwandt — nicht abtöten kann. Alle diese Versuche stehen im Einklang mit der Beobachtung, daß sich der Gasbrandbacillus in der Ackererde, den verschiedensten Witterungseinflüssen ausgesetzt, vermehrungsfähig erhält. Diese Resistenz ist jedoch offenbar lediglich durch die Anwesenheit von Sporen zu erklären, denn sporenfreie Kulturen werden ebenso wie durch Hitze von dem Licht der Quarzlampe abgetötet. Die Abtötung sporenhaltiger Kulturen jedoch mißlingt, wie dies der folgende Versuch zeigt.

18-stündige Traubenzucker-Bouillonkultur 144 A, welche nur vegetative, sporenlose Formen enthält, wird in 2 große Glasschalen in flacher Schicht ausgegossen und die eine $\frac{1}{2}$ Stunde bei ca. 50 cm Abstand mit der Quarzlampe bestrahlt. Die andere Schale wird als Kontrolle außerhalb des Strahlenkegels in der Nähe der Lampe offen hingestellt. Von dem bestrahlten und dem unbestrahlten Material werden fallende Dosen in Reagenzgläser gegeben und Traubenzuckeragar zugegossen. Nach 1, 2 und 3 Tagen Aufenthalt im Brutschrank wird das Wachstum der Kulturen festgestellt.

Impfmenge	1. Tag		2. Tag	
	unbestrahlt	bestrahlt	unbestrahlt	bestrahlt
2,0	—	0	—	0
1,0	—	0	—	0
0,5	viel Gas	0	viel Gas	0
1,0 $\frac{1}{10}$	mäßig Gas	0	mäßig Gas	0
0,5		0		0
1,0 $\frac{1}{100}$	Einzelkolonien	0	1 "Gasriß"	0
0,5	0	0	0	0
1,0 $\frac{1}{1000}$	0	0	0	0
0,5	0	0	0	0

Nach weiteren 24 Stunden Aufenthalt im Brutschrank keine Veränderung.

Nach halbstündiger Bestrahlung einer gut bewachsenen Kultur sporenloser Gasbrandbacillen sind also selbst in 2 ccm keine vermehrungsfähigen Keime mehr enthalten, während noch 0,01 der Kontrollbouillon sich als brauchbares Impfmateriel erwies. Da diese Kontrolle dicht neben der Lampe offenstand, so wird sie der Einwirkung des entstehenden Ozons kaum weniger ausgesetzt gewesen sein, als die bestrahlte

1) Med. Klinik, 1916, No. 26 und 27.

Kulturflüssigkeit. Daraus ergibt sich, daß die abtötende Wirkung auf die direkte Wirkung der Strahlen und nicht auf deren Produkt, das Ozon, zurückzuführen ist.

Ein analoger Versuch mit einer stark sporenhaltigen 18-stündigen Traubenzucker-Bouillonkultur des Stammes 126 zeigt, daß hier den Strahlen nur eine ganz geringe Wirkung zukommt.

Impfmenge	1. Tag		2. Tag	
	unbestrahlt	bestrahlt	unbestrahlt	bestrahlt
2,0	—	Gasbläschen	—	viel Gas
1,0	—	Einzelkolonien	—	" "
0,5	mäßig Gas	0	viel Gas	mäßig Gas
1,0 $\frac{1}{10}$	0	0	mäßig Gas	" "
0,5	0	0	" "	" "
1,0 $\frac{1}{100}$	0	0	" "	Einzelkolonien
0,5	0	0	" "	" "
1,0 $\frac{1}{1000}$	0	0	" "	0
0,5	0	0	" "	0

Die Kultur, welche mit 0,5 1 : 1000 der bestrahlten Bouillonkultur angelegt wurde, zeigt hier kein Wachstum mehr, während die gleiche Menge der unbelichteten Kontrolle in Traubenzuckeragar sich stark vermehrt. Immerhin enthalten jedoch noch Mengen von 0,5 1 : 100 und 1 : 1000 der bestrahlten Kultur wachstumsfähige Keime, wenn auch offenbar weniger als die unbestrahlte Kontrolle. Man wird also wohl kaum fehlgehen, wenn man annimmt, daß durch die ultravioletten Strahlen hier höchstens ein Teil der in der Kultur enthaltenen Bacillen, nämlich die sporensen, abgetötet worden sind, während die sporenhaltigen fortpflanzungsfähig geblieben sind.

Es gelingt also durch Behandlung mit der Quarzlampe, die sporensen Formen der Gasbrandbacillen abzutöten, während die sporenhaltigen widerstandsfähig sind, ein Umstand, der die Wirkung der Strahlen scharf von derjenigen der Chemikalien aus der Hydrochinreihe trennt.

Röntgenstrahlen erwiesen sich für beide Formen ähnlich wie in den Versuchen von Ernst Fraenkel, Frankenthal und Königsfeld als wirkungslos. Bei halbstündiger Bestrahlung in 26 cm Entfernung mit einer Coolidgeöhre wurde weder eine Abtötung noch eine Sensibilisierung für die Heilmittel erreicht.

B. Tierversuche.

Bereits die ersten orientierenden Reagenzglasversuche hatten gezeigt, daß in den besprochenen höheren Homologen der Hydrochinreihe Verbindungen von einer so starken Desinfektionskraft vorliegen, daß dieselbe für die Möglichkeit erfolgreicher Tierversuche sprach.

In dieser Richtung günstige Erwartungen allein schon im Hinblick auf den Ausfall der Reagenzglasversuche zu hegen, war gerade bei den Derivaten aus der Gruppe der Chinaalkaloide nicht unzulässig; im Prinzip — und dies gilt für die endlose Reihe anderer Desinfektionsmittel — erscheint sonst ein derartiger Uebergang, wie mannigfaltige Erfahrungen zeigen, wenig aussichtsvoll. Hier konnten wir, wie schon an anderen Orten ausgeführt ist, gestützt einerseits auf die anästhesierende Wirkung der Chinaalkaloide, andererseits auf die bewährte Desinfektionswirkung des Optochins bei *Ulcus serpens*, einen Effekt in Gegenwart von Gewebe und Gewebeflüssigkeit erwarten. Dazu kamen vor allem noch die Erfahrungen Biers¹⁾ bei der Behandlung von infizierten Wunden und von Abszessen, die, wie schon erwähnt, uns als Ausgangspunkt dienten.

Wir begannen also frühzeitig Tierversuche an Meerschweinchen, die wir gleichlaufend mit den geschilderten Reagenzglasversuchen fortführten. Letztere dienten uns stets als Wegweiser, dem auch ökonomische Bedeutung zukam; wir trugen aber der Wichtigkeit des Tierversuches dadurch Rechnung, daß wir durch ausgedehnte Reihen und häufige Wiederholungen seine Ergebnisse so sicher als irgendwie möglich zu stellen suchten. Wir können im folgenden nicht sämtliche Tierversuche ausführlich wiedergeben; die mitgeteilten Protokolle sind typischer Art und durch die Gesamtheit der Tierversuche nach allen Richtungen hin gestützt.

Bevor wir auf die Einzelheiten der Tierversuche eingehen, können die Ergebnisse kurz folgendermaßen zusammengefaßt werden:

1) A. Bier, Berl. klin. Wochenschr., 1917, No. 30.

Ebenso wie im Reagenzglas gelingt es auch im Organismus des für die Gasbrandinfektion empfänglichsten Versuchstieres, des Meerschweinchens, durch Behandlung mit den höheren Homologen der Hydrochininreihe die Vermehrung und die Giftproduktion der Gasbrandbacillen zu hemmen, die Bazillen abzutöten, das Angehen der Infektion zu verhindern und so eine Schutzwirkung zu erzielen.

Ueber die Technik der Versuche ist allgemein folgendes zu sagen.

Bei den Schutzversuchen an Meerschweinchen verwendeten wir als Infektionsmaterial durchgängig das Oedem infizierter Tiere, weil dies bei sämtlichen Stämmen in sehr kleinen Mengen bereits zur sicheren Infektion mit ganz regelmäßigem Verlauf führte, während die Infektiosität der Kulturen, an sich im allgemeinen schon geringer — wohl je nach der Menge der vorgebildeten Gifte — von Fall zu Fall weitgehende Verschiedenheiten aufweist.

Die Gewinnung genügender Oedemmengen bot keine Schwierigkeit.

Bei Verwendung mehrerer Tiere gelingt es stets, selbst bei Verimpfung der extrem vegetativen Formen (Typus Welch-Fraenkel), bei welchen vielfach die Gasbildung in den Vordergrund, die Oedembildung mehr zurücktritt, bei einzelnen Tieren unmittelbar nach dem Tode oder vor Eintritt desselben größere Mengen des hämolytischen Oedems aus dem subkutanen Gewebe mittels einer Pipette zu gewinnen. Diese Oedeme enthielten besonders nach mehreren Tierpassagen noch verschiedenartige Hautkeime. Wir berücksichtigten diese Verunreinigungen des Infektionsmaterials um so weniger, als ja auch die Kriegsverletzungen neben den Gasbrandbacillen noch eine Reihe verschiedenartiger anderer Keime zu enthalten pflegen. Zur Erzielung einer absolut sicheren, innerhalb 18 bis 24 Stunden tödlichen Gasbranderkrankung der stets verwandten jungen Tiere genügen von solchem bacillenhaltigen Oedem Mengen unter 0,1 ccm, ja bisweilen unter 0,01 ccm.

Bei den Schutzversuchen gingen wir nun so vor, daß wir wechselnde Verdünnungen des zu prüfenden Chinaalkaloids einer mehrfachen Infektionsdosis zumischten und dann sofort injizierten. In der Regel wurde die Vereinigung von infektiösem Oedem und der Alkaloidverbindung in der Rekordspritze selbst unmittelbar vor der Injektion vorgenommen, indem zuerst Oedem und dann die Lösung aufgesaugt wurde. Die Injektion erfolgte intramuskulär in den Oberschenkel, öfter aber subkutan in der Mittellinie am Bauch.

Bei den Infektionskontrollen entsteht bereits nach wenigen (2—4) Stunden am Ort der Injektion eine teigige Schwellung, die dann

rasch zunimmt. Bald läßt sich auch Gasbildung nachweisen, und innerhalb von 18—24 Stunden stirbt das Tier unter Krämpfen. Das Sektionsbild zeigt die bekannte Erscheinung des Muskelzerfalls unter Gasbildung und Entstehung eines hämorrhagisch-hämolytischen Oedems.

Die relative Stärke dieser beiden charakteristischen Symptome wechselt sowohl in verschiedenen Versuchsreihen mit dem gleichen Stamm als auch sogar bei den verschiedenen Versuchstieren einer und derselben Versuchsreihe.

Hat man nun dem Infektionsmaterial eines der im Reagenzglasversuch als wirksam erkannten Alkaloide in entsprechender Verdünnung zugemischt, so wird die Entwicklung der sonst so außerordentlich rasch fortschreitenden Erkrankung im Keim erstickt. Bei Verwendung von völlig ausreichenden Konzentrationen bleibt jede Oedem- und Gasbildung aus, nach 24 Stunden und später ist ein geringes flaches Infiltrat zu fühlen, oder aber es ist keine lokale Veränderung wahrzunehmen, je nach der Konzentration des Alkaloids, auf dessen Einwirkung diese geringgradigen Veränderungen zurückzuführen sind. Oder es entsteht eine kleine, später verschorfende Flüssigkeitsblase mit schmutzig-grünbraunen Wänden, ohne entwicklungsfähige Bacillen.

Bei der Sektion findet man am Ort der Infektion lediglich eine der infiltrierte Partie entsprechende, oft zehnpfennigstückgroße, gelbliche Schwarte, wohl durch Fibrinausscheidung und Leukocytenwanderung entstanden. Bei der Palpation erkennt man noch nach längerer Zeit diese Veränderung als eine flache, feste Infiltration im Subkutangewebe. Zur Ausbildung eines toxischen Oedems oder gar einer fortschreitenden Infektion kommt es dagegen hier, wie schon hervorgehoben, nicht.

Mit steigenden Verdünnungen des Alkaloids bemerkt man dann, daß sich rings um diese flache Infiltrationsscheibe ein leichter Wall bildet. Die Erscheinung geht in den nächsten Tagen wieder zurück, ohne zur fortschreitenden Infektion oder zu einer Schädigung zu führen. Es dürfte sich hier um eine vollständige Entwicklungshemmung handeln mit rein toxischem Oedem, bedingt durch das im Infektionsmaterial vorgebildete Toxin.

Nähert man sich weiter den schwächeren, nicht mehr wirksamen Dosen, so wird das Oedem immer ausgebreiteter, die Tiere sterben dann auch häufig in den folgenden Tagen,

trotzdem sich das Oedem bereits wieder mehr oder weniger zurückgebildet hat, ohne jedes Symptom der Gasbrandinfektion. Die Sektion ergibt dann vielmehr lediglich noch sehr geringe Mengen eines sulzig-glasigen Oedems, vielleicht mit leichten Hyperämien; ja, diese Veränderung im Subkutangewebe kann sogar schon völlig verschwunden sein, so daß ein mehr oder minder ausgeprägter wasserklarer Ascites oder ein ebensolcher Hydrothorax, sowie eine Rötung der Nebennieren die einzigen krankhaften Veränderungen darstellen. Jedenfalls fehlt hier der durch die Infektion bedingte Muskelzerfall, die Gasbildung, das hämolytische Oedem. Die Tiere sterben offenbar nicht an einer progredienten, normal verlaufenden Infektion, sondern an der Wirkung von Toxinen, für die sowohl das in dem eingespritzten Oedem bereits fertige, wie das im Körper bei der anfänglich einsetzenden und dann abortiv verlaufenden Infektion noch neu gebildete Gasbrandgift verantwortlich gemacht werden muß. Offenbar ist hier die Wirkung auf die Gasbrandbacillen eine unvollständige, aber immerhin genügende, um es weiterhin den Schutzkräften des Organismus zu ermöglichen, mit der gelinde einsetzenden, abgeschwächten Infektion fertig zu werden.

Welche Rolle hierbei eine sekundäre Giftbildung durch die fermentative Wirkung des primären Toxins spielt, soll hier nicht näher diskutiert werden, da dies hier praktisch wohl ohne Bedeutung ist.

Erst noch schwächere Konzentrationen lassen dann, wenn auch häufig noch verzögert, den typischen tödlichen Gasbrand im Versuchstier zustande kommen.

Was die relativen Werte der geprüften Verbindungen betrifft, so kann vorausgeschickt werden, daß die Ergebnisse des Tierversuches sich mit denjenigen des Reagenzglasversuches decken. Chinin und Optochin, die auch im Reagenzglas sich als recht wenig wirksam erwiesen, versagten im Tierversuch völlig. Selbst Konzentrationen von Chininum hydrochloricum 1:50—100 und Optochin hydrochloricum 1:100 vermochten die Tiere nicht zu retten. Dagegen zeigte es sich in zahlreichen Versuchsreihen mit 6 verschiedenen Gasbrandbacillenstämmen, daß man mit dem An-

steigen in der homologen Reihe zu Verbindungen von recht bedeutender Wirksamkeit gelangt.

Bereits der Isoamylverbindung, dem Eucupin, kommt eine sehr starke Schutzwirkung im Meerschweinchen zu, doch wird diese von dem Isoktylhydrocuprein noch bei weitem übertroffen. Auch in diesen quantitativen Beziehungen stimmen also die Tierversuche mit den Reagenzglasversuchen überein.

Die folgenden Versuchsergebnisse mit dem Stamm 144 in seiner vegetativen Gärform (144 A) zeigen uns diese Beziehungen deutlich.

Zur kurzen Charakterisierung des Befundes bei den Versuchstieren bedienen wir uns hier und später der folgenden Zeichen:

- 0 = lebt (kein Oedem und kein Gas, wenn nicht besonders vermerkt).
 ⊕ = tot ohne Gasödem.
 † = tot an Gasbrandinfektion.

Tabelle XXII.

Vergleich der Schutzwirkung von Isoktylhydrocuprein, Eucupin und Optochin.

Schutzversuche mit Meerschweinchenödem 144 A.

Infektion mit 0,1 Oedem, dem unmittelbar vor der Injektion fallende Mengen wässriger Lösungen von

1. Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum 1:100 und 1:1000,
2. Eucupin bihydrochloricum 1:100 und 1:1000,
3. Optochin hydrochloricum 1:100 und 1:1000

in der Spritze zugemischt werden. Infektion intramuskulär in den Oberschenkel.

Das Ergebnis des Versuches zeigt das folgende Schema:

	Isoktylhydrocuprein				Eucupin				Optochin	
	1. Tag	2. Tag	3. Tag	5. Tag	1. Tag	2. Tag	3. Tag	5. Tag	1. Tag	2. Tag
0,5 $\frac{1}{100}$	0	0	0	0	0	0	0	0	0 ²⁾	+
0,25	0	0	0	0	0	0	0	0	0 ²⁾	+
0,1	0	0	0	0	0 ¹⁾	0	0	0		
0,5 Wasser	†									
0,5 „	†									

- 1) Leichte teigige Schwellung der Injektionsstelle.
- 2) Krank, teigige Schwellung der injizierten Extremität.

	Isoktylhydrocuprein				Eucupin				Optochin
	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	1. Tag
1,0 $\frac{1}{1000}$	0 ¹⁾	0	0	0	0 ¹⁾	0 ²⁾	0	⊕ ³⁾	
0,5	0 ¹⁾	0 ²⁾	0 ³⁾	0	0 ¹⁾	0 ²⁾	0	⊕ ³⁾	†
1,0 Wasser	†								
1,0 „	†								

1) Geringe teigige Schwellung des injizierten Beins.

2) Mäßige bis starke Schwellung des injizierten Beins.

3) Sektion: kein Gas, kein Oedem, keine Rötung und Hämolyse.
Im Muskel eine kleine, etwa erbsengroße, trockene, grauweiße Partie, in der kulturell Gasbrandbacillen nachgewiesen wurden.

Wir lassen noch die ausführlichen Versuchsprotokolle zur genaueren Orientierung folgen.

Tabelle XXII a.

Gasbrand-Stamm 144 A.

Intramuskuläre Infektion von Meerschweinchen mit Gasbrandödem. Gleichzeitige Injektion von wässerigen Lösungen von Optochin bihydrochloricum, Eucupin bihydrochloricum und Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum.

Die Injektionen erfolgen stets auf der rechten Seite, mit einer Rekord-spritze mit mittlerer Kanüle. Es wird in der Nähe des Fußes subkutan eingestochen, von dort die Nadel nach dem Oberschenkel weitergeführt und in die Oberschenkelmuskulatur eingestochen. Größte Injektionsmenge 1,1 g.

Herkunft des Infektionsmaterials.

Oedem von Meerschweinchen 31 (Versuch IVa) vom 31. I. 1917. † am 1. II. 1917. Oedem 24 Stunden im Eisschrank aufbewahrt. Zweite unmittelbare Oedempassage.

Stammlösungen 1-proz. in Wasser vom 30. I. 1917. Kontrolltiere mit entsprechenden Mengen Wasser.

A. Optochin hydrochloricum.

1) Meerschweinchen, 200 g: 0,1 Oedem + 0,5 Optochin hydrochloricum 1:100.

3. II. Krank. Leichte Schwellung in der Umgebung des Muskels.

4. II. † gefunden.

Der Injektionsmuskel ist etwas tiefer rot als die Gegenseite und enthält einige Hämorrhagien, jedoch kein Oedem. Rotes Oedem im Bindegewebe.

2) Meerschweinchen, 230 g: 0,1 Oedem + 0,25 Optochin hydrochloricum 1:100.

3. II. Krank. Leichte Schwellung in der Umgebung des Muskels.

4. II. † gefunden.

Starkes flüssiges, hämorrhagisches Oedem am Injektionsbein. Beträchtliche Höhlenbildung im Muskel. Am anderen Bein Gasbildung. Dort und in den Achselhöhlen reichliches, nur leicht hämorrhagisches Oedem.

B. Eucupin bihydrochloricum.

1) Meerschweinchen, 280 g: 0,1 Oedem + 0,5 Eucupin bihydrochloricum 1:100. In der Spritze gemischt, sofort injiziert.

3. II. Munter. Eben merkbare Schwellung der Muskulatur. Kein Oedem.

4. II. Munter. Keine Schwellung. Der injizierte Muskel fühlt sich vielleicht etwas fester an als derjenige der Gegenseite.

5. II. Völlig munter. Ohne lokalen Befund.

6. II. " " " " "

7. II. Munter. Glatt entlassen.

2) Meerschweinchen, 230 g: 0,1 Oedem + 0,25 Eucupin bihydrochloricum 1:100.

3. II. Munter. Deutliche feste Schwellung des Muskels. Kein Oedem.

4. II. Undeutliche feste Schwellung des Muskels. Kein Oedem.

5. II. Munter, ohne Befund.

6. II. " " "

7. II. Munter. Undeutliche feste Schwellung des Muskels. Entlassen.

3) Meerschweinchen, 210 g: 0,1 Oedem + 0,1 Eucupin bihydrochloricum 1:100.

3. II. Munter. Sehr geringe Schwellung des Muskels.

4. II. Munter. Ohne verhärtete Partie im Muskel.

5. II. Munter. Ohne Befund.

6. II. " " "

7. II. Munter. Verhärtete Partie im Muskel. Entlassen.

C. Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum.

1) Meerschweinchen, 230 g: 0,1 Oedem + 0,5 Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum 1:100.

3. II. Munter. Eben fühlbare feste Schwellung des Muskels. Kein Oedem.

4. II. Ebenso.

5. II. Munter. Ohne Befund.

6. II. " " "

7. II. Munter. Glatt. Entlassen.

2) Meerschweinchen, 260 g: 0,1 Oedem + 0,2 Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum 1:100.

3. u. 4. II. Munter. Leichte, feste Schwellung. Kein Oedem.

5. u. 6. II. Munter. Ohne Befund.

7. II. Munter. Glatt. Entlassen.

3) Meerschweinchen, 250 g: 0,1 Oedem + 0,1 Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum 1:100.

3. II. Munter. Eben merkbare Schwellung des Muskels. Kein Oedem.

4. II. Ebenso.

5. u. 6. II. Munter.

7. II. Munter. Eben merkbare, sehr feste Schwellung des Muskels. Entlassen.

D. Kontrollen.

1) Meerschweinchen, 240 g: 0,1 Oedem + 0,5 Aqu. dest.

3. II. † gefunden.

Starke Höhlenbildung im Muskel. Viel himbeerfarbenes, stark sulzig-hämorrhagisches Oedem im subkutanen Gewebe der Schenkelhöhle, Achselhöhle und gesamten Bauchfläche. Schenkelmuskulatur von Gasblasen umgeben.

2) Meerschweinchen, 250 g: 0,1 Oedem + 0,25 Aqu. dest.

3. II. † gefunden.

Beträchtliche Höhlenbildung. (Befund wie 1.) Wenig Gasbildung.

Hierzu sind als Kontrollen noch zu betrachten die beiden Meerschweinchen aus Versuch VIa 1) und 2). Die Virulenz dieses Oedems ist für diesen Versuch nicht weiter eingestellt. Dagegen erwiesen sich am Tag vorher von dem frischen, nicht aufbewahrten Oedem 0,05 als in 24 Stunden unter typischen Symptomen tödlich. Weitergehende Virulenzbestimmungen nicht vorgenommen.

Einwirkung von wässrigen Lösungen von Optochin hydrochloricum, Eucupin bihydrochloricum und Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum, bei gleichzeitiger intramuskulärer Infektion mit Oedemflüssigkeit.

Oedem entnommen am 1. I. Im Eisschrank aufbewahrt.

A. Optochin hydrochloricum.

1) Meerschweinchen, 300 g: 0,1 Oedem + 0,5 Optochin hydrochloricum 1:1000 in Wasser intramuskulär.

6. II. Moribund. Sehr starke Schwellung. Gasödem palpabel.

12 Uhr †.

Starke Höhlenbildung im Muskel. Reichlich sulzig-hämorrhagisches Oedem von Schenkelbeuge zu Achselhöhle. Bauchmuskel wie gekocht. Sehr viel Gas.

B. Eucupin bihydrochloricum.

1) Meerschweinchen, 170 g: 0,1 Oedem + 1,0 Eucupin bihydrochloricum 1:1000 intramuskulär.

6. II. Munter. Keine deutliche Schwellung.

7. II. Munter. Starke Schwellung des Beins.

8. II. Munter. Starke, feste Schwellung im Muskel.

9. II. † gefunden.

Kein Gas. Kein Oedem. Im Muskel eine etwa bohnen große, grau-weiße Partie nekrotischen Muskelgewebes.

2) Meerschweinchen, 170 g: 0,1 Oedem + 0,5 Eucupin bihydrochloricum 1:1000 intramuskulär.

6. II. Munter. Geringe Schwellung an der Injektionsstelle.

7. II. Munter. Starke Schwellung im Muskel.

8. II. Munter. Starke, feste Schwellung im Muskel.

9. II. † gefunden.

Kein Gas. Kein Oedem. Im Muskel eine etwa bohnen große, grau-weiße Partie nekrotischen Muskelgewebes.

3) Meerschweinchen, 200 g: 0,1 Oedem + 0,1 Eucupin bihydrochloricum 1:1000 intramuskulär.

6. II. Sehr starke, teigige Schwellung, die die Schenkelbeuge überschreitet.

12 Uhr †

Mäßige Höhlenbildung im Muskel. Wenig, leicht hämorrhagisches, sulziges Oedem am Infektionsmuskel.

C. Isoktylhydrocuprein.

1) Meerschweinchen, 220 g: 0,1 Oedem + 1,0 Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum 1:1000 intramuskulär.

6. II. Munter. Ganz geringe Schwellung an der Injektionsstelle.

7. II. Munter. Ganz geringe, feste Schwellung an der Injektionsstelle.

8. II. Munter. Ganz geringe, feste Schwellung im Muskel.

9. II. Munter. Ganz geringe, feste Schwellung im Muskel. Entlassen.

2) Meerschweinchen, 210 g: 0,1 Oedem + 0,5 Isoktylhydrocuprein 1:1000 intramuskulär.

6. II. Munter. Keine deutliche Schwellung.

7. II. Krank. Teigige Schwellung des Injektionsbeins.

8. II. Krank. Feste Schwellung des Injektionsbeins.

9. II. Munter. Sehr feste und ausgedehnte geschwollene Partie im Muskel. Entlassen.

3) Meerschweinchen, 200 g: 0,1 Oedem + 0,1 Isoktylhydrocuprein 1:1000 intramuskulär.

6. II. Munter. Ganz geringe Schwellung an der Injektionsstelle.

7. II. Munter. Geringe, feste Schwellung an der Injektionsstelle.

8. II. Munter. Geringe, feste Schwellung im Muskel.

9. II. Munter. Geringe, feste Schwellung im Muskel. Entlassen.

D. Kontrollen.

1) Meerschweinchen, 320 g: 0,1 Oedem + 1,2 Aqua destillata intramuskulär.

6. II. † gefunden.

Haut an Beinen, Bauch und Teile an der Brust abgehoben. Verschiebliche Gasblasen. Die Haare lassen sich daher in der ganzen Zone mit der Epidermis abheben. Im Unterhautzellgewebe sehr viel Gas und

trübes hämorrhagisches Oedem. Bauchdecke tiefrot und angefressen. Nebennierenrinde runde, rote Fleckchen. Lunge maximal gebläht. Fällt nicht zusammen.

2) Meerschweinchen, 270 g: 0,1 Oedem + 0,5 Aqua destillata intramuskulär.

6. II. Moribund.

Starkes Gasödem auf dem Bauch palpabel.

Die zur Infektion verwendete Menge von 0,1 ccm Meerschweinchenödem erwies sich also bei sämtlichen 4 Kontrolltieren als sicher und prompt tödlich. Alle 4 Tiere starben innerhalb 24 Stunden nach der Infektion am Gasbrand.

Diese völlig sichere Infektion konnte durch gleichzeitige Behandlung mit 0,1 ccm einer Verdünnung 1:1000 Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum verhindert werden. Beim Eucupin dagegen versagte dieselbe Menge bereits, doch gelang hier der Infektionsschutz mit einer 5mal größeren Menge. Vom Optochin dagegen konnten selbst 25- und 50mal größere Dosen den Infektionstod nicht mehr verhindern, wenn sie ihn auch um einige Zeit verzögerten.

Größere Dosen von Isoktylhydrocuprein bis 0,1 1:100 und Eucupin bis 0,25 1:100 verhinderten die Entwicklung der Infektion völlig. Bei den schwächeren Dosen traten vorübergehend nur minimale teigige Schwellungen an der injizierten Extremität auf; doch heilte diese schwache Infektion bis zum 2. und spätestens 3. Tage wieder ab, so daß die Tiere am 4. bzw. 5. Tage glatt entlassen werden konnten. 2 mit geringen Eucupinmengen behandelte Tiere starben am 4. Tage ohne Gasbrand. Die geringe, am 1. und 2. Tage bestehende Infektion ist ausgeheilt, doch können kulturell noch Gasbrandbacillen nachgewiesen werden.

Tabelle XXIII.

Vergleich der Schutzwirkung von Isoktylhydrocuprein und Eucupin.

Schutzversuch mit Meerschweinchenödem 144 A.

0,1 ccm einer Meerschweinchenödemverdünnung in Wasser 1:1 144 A = 0,05 ccm Oedem; diese werden mit 0,5 ccm steigender Verdünnung von

1) Eucupin bihydrochloricum,

2) Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum

unmittelbar vor der Injektion in der Spritze gemischt und intramuskulär in den Oberschenkel injiziert. Je 2 Tiere werden gleichartig behandelt.

	1. Tag		2. Tag		3. Tag		4. Tag	
	a)	b)	a)	b)	a)	b)	a)	b)
Isoktylverdünnung								
1:500	0	0	0	0	0	0	0 ⁵⁾	0
1:750	0	0	0	0	0	0	0	0
1:1000	0 ¹⁾	0 ¹⁾	0	0	0	0	0	0
1:1500	0 ³⁾	0	0 ¹⁾	0	0	0	0	0
1:2000	0 ¹⁾	0	0	0	0	0	0	0
Eucupinverdünnung	a)	b)	a)	b)	a)	b)	a)	b)
1:500	0 ¹⁾	0	0 ³⁾	0	0	0	0 ⁵⁾	0
1:750	0 ¹⁾	0 ⁴⁾	0 ¹⁾	+	0	0	0	0
1:1000	0 ¹⁾	0 ¹⁾	0	0	0	0	0	0
1:1500	0 ¹⁾	+	+					
1:2000	0 ⁵⁾	0 ⁵⁾	+	+				
Kontrolle	+	+						

- 1) Leichte teigige Schwellung der injizierten Extremität.
- 2) Mäßige teigige Schwellung der injizierten Extremität, überschreitet nicht die Schenkelbeuge.
- 3) Leichtes Oedem auf dem Unterbauch.
- 4) Oedem am Bein und etwas Gas.
- 5) Getötet. Im Muskel an der Infektionsstelle eine erbsgroße grau-weiße trockene Partie. In Traubenzuckeragar wachsen daraus keine Gasbrandbacillen.
- 6) Getötet. Befund wie 5), jedoch werden kulturell Gasbrandbacillen nachgewiesen.

Dieser Versuch zeigt wiederum die Ueberlegenheit des Isoktylhydrocupreins über das Eucupin. Während eine sicher tödliche Infektion durch Isoktylhydrocuprein 1:2000 völlig verhindert wurde, versagte die gleiche Eucupinmenge ebenso, wie selbst bei größeren Dosen derselben bis zu 1:750 noch ein Mißerfolg zu verzeichnen war.

Tabelle XXIV.

Vergleich der Schutzwirkung von Isoktylhydrocuprein und Chinin.

Schutzversuch mit Meerschweinchenödem 144 A. 9. II.

0,1 ccm Oedem wird mit 0,5 ccm steigender Verdünnung von Chinin hydrochloricum bzw. einer Verdünnung 1:500 Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum in der Spritze unmittelbar vor der Injektion gemischt und intramuskulär in den Oberschenkel injiziert.

	Chinin			Isoktyl			Kontrollen		
	1. Tag	2. Tag	3. Tag	1. Tag	2. Tag	3. Tag	1. Tag	2. Tag	3. Tag
1:50	0 ¹⁾	+	—	—	—	—	0 ²⁾	+	+
1:250	+	+	—	—	—	—	+		
1:500	+			0	0	0			

- 1) Starkes Oedem an beiden Hinterbeinen.
- 2) Große schwappende Gasödemblase am Bauch.

Tabelle XXV.

Vergleich der Schutzwirkung von Isoktylhydrocuprein
bihydrochloricum und Eucupin bihydrochloricum.

Schutzversuch mit Meerschweinchenödem 144 A. 7. II.

0,1 ccm Oedem wurde mit je 0,5 ccm der steigenden Verdünnungen der beiden wässrigen Lösungen unmittelbar vor der Injektion in den Oberschenkel gemischt. Mit den Eucupinverdünnungen werden je 2 Tiere gleichartig behandelt, ebenso mit Isoktylhydrocuprein 1:1600.

	Eucupin					Isoktylhydrocuprein				
	1. Tag		2. Tag		3. Tag	1. Tag		2. Tag		3. Tag
	a)	b)	a)	b)	a)	a)	b)	a)	b)	a)
1:100	0	⊕ ¹⁾	0	0	0	0	—	0	—	0
1:200	0 ²⁾	0 ²⁾	0	⊕ ⁴⁾	0	0	—	0	—	0
1:400	0 ²⁾	0	0	⊕ ⁴⁾	0	0	—	0	—	0
1:800	0 ³⁾	0 ²⁾	0	†	0	0	—	0	—	0
1:1600	†	†				†	†			
Kontrollen: 0,1 Oedem †										
0,05 „ †										
0,01 Oedem †										
0,005 „ †										

1) Tot an Verblutung. Bei der Injektion ist offenbar ein großes Schenkelgefäß angestochen worden.

2) Leichte teigige Schwellung im Injektionsmuskel.

3) Starke teigige Schwellung im Injektionsmuskel.

4) Tot ohne Gas- und Oedembildung.

Ebenso wie das Optochin (Tabelle XXII) versagt also auch das Chinin (Tabelle XXIV), selbst in Mengen, welche 10mal größer sind als die noch wirksamen des Isoktylhydrocupreins.

Fassen wir die zahlenmäßigen Ergebnisse dieser vergleichenden Versuche zusammen, so ergibt sich, daß die Wirkung des Chinins und Optochins so schwach ist, daß selbst Konzentrationen von 1:50 und 1:100 keine Schutzwirkung mehr im Meerschweinchenkörper ausüben.

Beim Eucupin dagegen genügen die gleichen Mengen einer Konzentration von 1:1000 im allgemeinen noch, wenn dabei auch bereits mit einzelnen Versagern gerechnet werden muß. Dagegen ließ sich beim Isoktylhydrocuprein entweder noch mit 5-fach kleinerer Menge einer Konzentration 1:1000 oder mit gleicher Menge einer Konzentration 1:2000 bis 1:2500 sichere Schutzwirkung unter den gleichen Bedingungen erzielen. Diese wirksamen Dosen enthalten

$\frac{1}{4}$ und $\frac{1}{10}$ mg des doppelsalzsauren Salzes des Isoktylhydrocupreins. In derselben Weise verliefen noch eine Anzahl anderer Versuchsreihen mit dem gleichen Stamm.

Weiterhin bestätigte sich die bereits in den Reagenzglasversuchen festgestellte Ueberlegenheit gegenüber dem Isoktylhydrocupreinotoxin, wie sie z. B. der folgende Versuch mit einem anderen Gasbrandstamm zeigt.

Tabelle XXVI.

Vergleich der Schutzwirkung von Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum und Isoktylhydrocupreinotoxin hydrochloricum.

Schutzversuch mit Meerschweinchenödem Stamm Charité. 16. III.

0,14 ccm Oedem werden mit 0,9 ccm steigender Verdünnung von

1) Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum,

2) Isoktylhydrocupreinotoxin hydrochloricum

in der Spritze unmittelbar vor der Injektion gemischt und in der Mittellinie subkutan unter die Bauchhaut injiziert.

	1) Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum				2) Isoktylhydrocupreinotoxin hydrochloricum			
	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag
1:100	0	0	0	0	0	0	0	0
1:100	0	0	0	0	0	0	0	⊕
1:500	0 ¹⁾	0	0	0	0	0	0	0
1:500	0 ¹⁾	+			0	0	0	0
1:1000	0 ¹⁾	0	0	0	0 ²⁾	⊕		
1:1000	0 ¹⁾	0	0	0	0 ²⁾	+		
1:2000	0 ²⁾	0	0	0	0 ²⁾	+		
1:2000	0	0	0	0	+			
Kontrollen	+							
Kontrollen	+							

1) Dünner teigiger Strang in der Mittellinie des Bauches.

2) Leichte teigige Schwellung auf der Brust.

Während also die beiden mit einer Verdünnung des Isoktylhydrocupreinotoxins 1:1000 behandelten Tiere entweder an der Infektion oder doch an der Menge der gebildeten Gifte starben, war der Schutz des Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum 1:2000 noch ein sicherer. Allerdings starb hier außer der Reihe ein Tier an Gasbrand, das mit 1:500 behandelt war.

Nachdem sich so das Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum im Meerschweinchenversuch genau wie in den Reagenzglasversuchen als die wirksamste Substanz er-

wiesen hatte, war weiterhin nur noch zu zeigen, daß auch im Tierversuch sämtliche Wuchsformen auf das Desinficiens reagieren.

Zu diesem Zwecke sollen nunmehr Tierversuche mit weiteren Gasbrandstämmen angeführt werden.

Tabelle XXVII.

Schutzwirkung des Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum auf Meerschweinchenödem Stamm Charité (s. auch Tab. XXVI).

0,06 ccm Oedem Stamm Charité sind mit je 1,0 ccm wässriger Verdünnung von Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum 1:250 und 1:500 in der Spritze gemischt und sofort subkutan am Bauch injiziert.

	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag
1:250	0	0	0	⊕
1:250	0	0	0	0
1:500	0 ¹⁾	0	0	⊕
1:500	0 ¹⁾	0	0	0
Kontrolle	†			
Kontrolle	†			

1) Leichte teigige Schwellung.

Während also die beiden Kontrollen innerhalb 24 Stunden am Gasbrand starben, bleiben die beiden mit einer Verdünnung 1:250 von Isoktylhydrocuprein behandelten Tiere glatt. Eines derselben geht am 4. Tag interkurrent ohne Gasbrand ein. Die beiden mit 1,0 ccm 1:500 behandelten Tiere haben am 1. Tag eine leichte teigige, also ödematöse Schwellung in der Nähe der Injektionsstelle, die bis zum 2. Tag verschwunden ist. Auch hier stirbt ein Tier am 4. Tag ohne Gasbrand.

Tabelle XXVIII.

Schutzwirkung mit Meerschweinchenödem und Stamm 6.

22. III. 0,1 ccm Oedem wird mit 1 ccm steigender, wässriger Verdünnung von Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum unmittelbar vor der Injektion in der Spritze gemischt und dann unter die Bauchhaut injiziert. 4 Tiere erhalten 1 ccm einer Verdünnung 1:250, 4 Tiere 1:500, 2 Tiere 1 ccm einer Verdünnung 1:1000, und 2 Kontrolltiere erhalten nur Oedem.

	1. Tag				2. Tag				3. bis 6. Tag			
1:250	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:500	0 ¹⁾	0 ¹⁾	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:1000	0	0			0	0			0	⊕		
Kontrollen	†	†										(3. Tag)

1) Leichter teigiger Wall um die Injektionsstelle.

Eine akut tödliche Infektion mit einem Meerschweinchenödem von Stamm 6 wird also durch gleichzeitige Behandlung

mit wässerigen Verdünnungen von Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum bis 1:1000 verhindert. Während diese Schutzwirkung bei Verdünnung 1:500 bei sämtlichen 4 Tieren eine absolute und sichere ist, stirbt eines der beiden mit der Verdünnung 1:1000 behandelten Tiere an der Wirkung der Gasbrandgifte ohne Infektion.

Tabelle XXIX.

Schutzversuch mit Meerschweinchenödem und Stamm 126.

4. IV. 0,1 ccm einer Oedemverdünnung 1:1 = 0,05 ccm werden unmittelbar vor der Injektion in der Spritze mit 1 ccm einer wässerigen Lösung von Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum gemischt und subkutan unter die Bauchhaut in der Medianlinie injiziert.

	Isoktyl 1:200			Kontrollen	
1. Tag	0 ¹⁾	0 ¹⁾	0 ¹⁾	†	†
2. Tag	0	0	0		
und folgende					

1) Teigiger, schmaler Wall um die Injektionsstelle am Bauch.

Eine sicher tödliche Infektion mit Meerschweinchenödem 126 wird also durch gleichzeitige Behandlung einer wässerigen Lösung von Isoktylhydrocuprein 1:200 mit Sicherheit verhindert.

Tabelle XXX.

Vergleich der Schutzwirkung von Eucupin und Isoktylhydrocuprein.

Schutzversuch mit Meerschweinchenödem und Stamm 148. 30. III.

0,1 ccm Oedem werden mit je 1 ccm steigender Verdünnungen einer wässerigen Lösung von

- 1) Eucupin bihydrochloricum,
- 2) Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum

in der Spritze gemischt und subkutan in die Bauchhaut injiziert.

	Isoktylhydrocuprein				Eucupin			
	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag
1:500	0 ¹⁾ 0 ¹⁾	0 0	0 0	0 0	0 ²⁾ 0 ²⁾	0 ¹⁾ 0 ²⁾	0 0 ²⁾	⊕ †
1:1000	0 ²⁾ 0 ²⁾	0 †	0	⊕	0 ¹⁾ †	0 ¹⁾	†	
Kontrollen:								
Oedem 0,1	†	†						
„ 0,05	†							
„ 0,01	0 ¹⁾	—	†					

- 1) Teigiger Wall um die Injektionsstelle.
- 2) Teigige Schwellung auf der Brust.
- 3) Teigige Schwellung am Unterbauch.
- 4) Ausgedehnte teigige Schwellung auf Brust und Bauch.

Bei Verwendung einer über 10mal tödlichen Infektionsdosis gelingt also der Infektionsschutz mit 1 ccm einer Verdünnung 1:500 von Isoktylhydrocuprein, während von den beiden mit einer Verdünnung 1:1000 vorbehandelten Tieren das eine an einer Gasbrandinfektion mit einer Verzögerung von 1 Tag, das andere an einer Vergiftung wohl ohne Infektion zugrunde geht. Die Schutzwirkung einer Eucupinlösung 1:500 ist dagegen schon unzulänglich. Sie zeigt dieselben Verhältnisse wie eine halb so starke Isoktyllösung.

Tabelle XXXI.

Vergleich der Schutzwirkung von Eucupin und Isoktylhydrocuprein.

Schutzversuch mit Meerschweinchenödem Stamm 150. 31. III.

0,1 ccm Oedem werden mit je 1 ccm steigender Verdünnungen mit einer wässrigen Lösung von

- 1) Eucupin bihydrochloricum,
- 2) Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum

in der Spritze gemischt und subkutan unter die Bauchhaut injiziert.

	Isoktylhydrocuprein				Eucupin			
	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag
1:100	0 0	0 0	0 0	0 0	0 ¹⁾ 0 ¹⁾	0 0	⊕ ⊕	— —
1:500	0 ¹⁾ 0 ¹⁾	0 ¹⁾ 0 ¹⁾	0 0	0 0	0 ¹⁾ 0 ¹⁾	0 ¹⁾ 0 ¹⁾	0 ¹⁾ 0 ¹⁾	0 ⊕
1:1000	0 ²⁾ 0 ¹⁾	0 ¹⁾ †	⊕		0 ²⁾ 0 ²⁾	0 ²⁾ 0 ¹⁾	† †	

Kontrollen:

Oedem	0,1	0 ²⁾	†	
„	0,05	0 ²⁾	0 ²⁾	†
„	0,01	0 ²⁾	†	

- 1) Geringe teigige Schwellung.
- 2) Mäßige bis starke teigige Schwellung.

Genau wie im vorhergehenden Versuch übt hier eine Isoktylhydrocupreinverdünnung 1:500 einen sicheren Infektionsschutz bei Verwendung einer über 10mal tödlichen Infektionsdosis aus. Eine Verdünnung 1:1000 verhindert bei dem einen Versuchstier zwar die Infektion, aber nicht die Vergiftung und versagt bei dem anderen. Die Schutzwirkung des Isoktylhydrocupreins übertrifft auch hier diejenige des Eucupins.

Das Isoktylhydrocuprein wirkt also ebenso wie im Reagenzglas auch im Tierkörper auf die unbeweglichen sporenfreien, sowie auf die beweglichen sporenbildenden Gasbrandstämme,

einerlei ob diese sich auf Eiweißnährböden als stärkere Fäulnis-
erreger erweisen oder nicht.

Wir haben bereits oben gesehen, daß selbst dann, wenn es gelingt, das Angehen der Infektion zu verhindern, dennoch einige Tiere an Giftwirkung zugrunde gehen. Dies war ganz besonders dann der Fall, wenn zur Infektion die beweglichen, mehr auf Fäulnis eingestellten Wuchsformen verwendet wurden. Immerhin ergab sich aber auch dann, daß bei der Verwendung der Isoktylkonzentrationen 1:500 ein sicherer Schutzeffekt im Meerschweinchen zu erzielen war. Es lag deshalb die Vermutung nahe, daß dem Isoktylhydrocuprein nicht nur eine direkte hemmende Einwirkung auf die Giftbildung durch die Bacillen selbst, analog der Verhinderung der Gärung, wie wir sie aus unseren Reagenzglasversuchen kennen, sondern auch eine, wenn auch geringe, neutralisierende Wirkung auf das bereits fertige Gift zukommt. Diese Vermutung bestätigte sich durch den folgenden Versuch.

Tabelle XXXII.

3. IV. 22 ccm Oedem von 5 Meerschweinchen, † am 2. und 3. IV., infiziert mit Stamm 144 und 150, werden mit der gleichen Menge physiologischer Kochsalzlösung versetzt und durch eine Tonkerze filtriert. 1,0, 0,5 und 0,1 ccm des Filtrats erweisen sich als steril bei anaërober und aërober Züchtung. Je 0,2 ccm des Oedemfiltrats werden am 4. IV. Meerschweinchen nach Mischung mit steigenden Verdünnungen von 0,9 ccm einer wässerigen Lösung von Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum subkutan in die Bauchhaut injiziert.

1. Nase blau, 250 g.

4. IV. 0,2 Oedemfiltrat + 0,9 Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum 1:100.

5. IV. Munter, geringe teigige Schwellung auf der Brust.

6. IV. Munter wie 5. IV.

7. IV. Munter. Geringe feste Schwellung am Ende des Brustbeins.

10. IV. Subkutaner Schorf. Entlassen.

2. Rechter Hinterfuß blau, 270 g.

0,2 Oedemfiltrat + 0,9 Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum 1:500.

5. IV. Munter. Reichliche teigige Schwellung auf der Brust.

6. IV. Munter. Ebenso.

7. IV. Munter. Geringe teigige Schwellung auf der linken Brustseite deutlich zurückgegangen.

10. IV. Munter, grünlicher Hautschorf mit Haardefekt.

3. Braunes Tier, 240 g.

4. IV. 0,2 Oedemfiltrat + 0,9 Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum 1:1000.

5. IV. † gefunden. Sehr viel sulzig-glasiges Oedem. Reichliche Hyperämien auf dem Bauch. Hydrothorax, keine Muskelverdauung, kein Gas, keine Hämolyse.

Kontrollen:

1. Kopf lila, 280 g.

0,2 Oedemfiltrat.

5. IV. † gefunden. Sehr viel sulzig-glasiges Oedem, starke Hyperämien ohne Hämorrhagie. Kein Gas, keine Hämolyse.

2. Steiß lila, 320 g.

0,2 Oedemfiltrat.

5. IV. † gefunden. Befund wie bei 1.

3. Steiß blau, 210 g.

0,2 $\frac{1}{8}$ Oedem = 0,04 ccm.

5. IV. Ruhig, geringes teigiges Oedem auf dem Brustmuskel.

12. IV. †, Befund wie bei 1.

4. Nase und Unterkiefer blau, 210 g.

0,1 $\frac{1}{8}$ Oedemfiltrat = 0,02 ccm.

5. IV. Ruhig, mäßige teigige Schwellung auf der Brustmitte.

6. IV. 12 Uhr †. Befund wie bei 1.

Wir sehen also, daß tatsächlich schon eine Isoktylhydrocuprein-Konzentration 1:500 eine über 10mal tödliche Giftdosis zwar nicht völlig unwirksam macht, jedoch so abschwächt, daß das Tier die Vergiftung übersteht.

Es könnte nun daran gedacht werden, daß dies lediglich auf eine Säurewirkung zurückzuführen sei. Denn wir wissen ja seit Graßberger und Schattenfroh, daß z. B. die Giftdarstellung bei der Gärung der Rauschbrandbacillen nur gelingt, wenn gleichzeitig durch Kreidezusatz die ständig während der Gärung entstehenden Säuren neutralisiert werden. Andererseits ist bekannt, daß das Diphtheriegift gegen Säureeinwirkung sehr empfindlich ist. Infolgedessen wurde durch Titration mit Kalilauge und Phenolphthalein der Säuregehalt der verwendeten 1-proz. Isoktylhydrocupreinlösung festgestellt und dann die Einwirkung entsprechender Säuremengen auf das verwandte giftige Oedemfiltrat festgestellt.

Tabelle XXXIII.

Zur Neutralisation von 100 ccm der Lösung von Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum 1:100 in Wasser wurden 25 ccm n_{10} NaOH verwandt. Zur Neutralisation von 100 ccm Isoktylhydrocupreinlösung 1:1000 wurden 3 ccm n_{10} NaOH verwandt.

Nunmehr werden am 11. IV. zu je 0,2 ccm des oben verwandten giftigen Oedemfiltrates steigende Verdünnungen von Normal-Salzsäure zugegeben und Meerschweinchen subkutan unter die Bauchhaut injiziert.

1. Linker Hinterfuß blau, 270 g.

0,2 Oedemfiltrat + 1,0 n_{100} HCl (entspricht 1,0 ccm Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum 1:125).

12. IV. Munter. Mäßige teigige Schwellung auf der Brustmitte.

13. u. 14. IV. Ebenso.

15. IV. Schwellung reicht bis zum Hals.

16. IV. † gefunden. Etwas sulzig-glasiges Oedem mit starker Hyperämie auf der Brust. Starker Hydrothorax.

2. No. 10, 270 g.

0,2 Oedemfiltrat + 0,2 n_{100} HCl (entspricht 1,0 ccm Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum 1:250).

12. IV. † gefunden. Starkes sulzig-glasiges Oedem auf Brust und Bauch mit einigen hyperämischen Punkten. Sonst o. B.

3. Rechter Hinterfuß blau, 230 g.

0,2 Oedemfiltrat + 1,0 n_{100} HCl (entspricht 1,0 ccm Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum 1:1000).

12. IV. Krank, schwappendes Oedem.

13. IV. † gefunden. Befund wie 2.

Kontrollen:

1. Nase blau, 200 g.

0,2 Oedemfiltrat.

12. IV. Krank. Schwappendes Oedem auf der Brust. 1 Uhr †. Dickes sulzig-glasiges Oedem auf Brust und Bauch in der Mittellinie. Flanken frei. Zahlreiche punktförmige Hyperämien. Hydrothorax.

2. Rechter Vorderfuß blau, 210 g.

0,2 Oedemfiltrat.

12. IV. $\frac{1}{4}$ Uhr †. Oedem ausgedehnter als bei 1. Sonst ebenso.

Es ergibt sich also, daß eine n_{50} Salzsäure, die den titrierbaren Säuregehalt einer Konzentration 1:125 Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum darstellt, lediglich einen verzögernden Einfluß auf die Vergiftung ausübt. Eine Einwirkung der Säure auf den Ablauf der Vergiftung im Tierkörper ist

1) Tatsächlich kommt dieser bei weitem nicht in Frage.

9*

demnach wohl vorhanden, sie ist jedoch bedeutend geringer als die Wirkung des Isoktylhydrocupreins, denn die einer noch wirksamen Verdünnung des Alkaloids 1:500 entsprechenden Säuremengen sind bereits völlig unwirksam.

Daß eine Säurewirkung hier nicht in Frage kommt, ergibt sich auch daraus, daß das bei neutraler Reaktion leicht lösliche chinasaure Salz des Isoktylhydrocupreins, wie dies der folgende Versuch dartut, ebenso wie im Reagenzglas, auch im Tierkörper wirkt.

Tabelle XXXIV.

Bestimmung der Wirksamkeit des Isoktylhydrocuprein chinicum auf Meerschweinchenödem 144 A.

0,1 ccm Oedem wird mit je 1,0 ccm steigender Verdünnungen neutraler Lösungen von Isoktylhydrocuprein chinicum in der Spritze gemischt und Meerschweinchen subkutan in der Mittellinie am Bauch injiziert. Zwei Kontrollen bleiben unbehandelt.

	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag
1:250	0	0	0	0
1:250	0 ¹⁾	0	0	0
1:500	0 ¹⁾	0	⊕ ²⁾	—
1:500	0 ¹⁾	0	⊕ ²⁾	—
1:1000	0 ²⁾	0 ¹⁾	0	0
1:1000	0 ²⁾	0 ¹⁾	0	0
Kontrolle	†			
Kontrolle	†			

1) Leichte teigige Schwellung.

2) Mäßige teigige Schwellung.

3) Das Gewebe erweist sich bei Züchtung in 1-proz. Traubenzuckeragar als steril.

Die beiden Kontrollen starben also innerhalb 24 Stunden an Gasbrand. Von den beiden mit einer Verdünnung 1:250 behandelten Tieren war das eine bereits am folgenden Tage glatt und blieb es während der Beobachtungszeit. Das andere hatte eine bereits am 2. Tage verschwundene, sehr geringe Schwellung. Auch die beiden mit 1:500 behandelten Tiere waren am 2. Tage glatt. Sie starben interkurrent am 3. Tage. Die Verimpfung von großen Gewebstücken der Injektionsstelle auf 1-proz. Traubenzuckeragar ergab, daß keine Gasbrandbacillen mehr anwesend waren.

Die beiden mit 1:1000 behandelten Tiere hatten am 1. Tage eine mäßige teigige Schwellung am Bauch, die sich

bis zum 4. Tage zurückbildete. Bei diesen Tieren heilte also die zuerst entstandene leichte Infektion unter der Einwirkung des Heilmittels aus.

In demselben Sinne wie dieser Versuch spricht der folgende Versuch mit der Base des Eucupins und dem chinasauren Salz des Eucupins.

Tabelle XXXV.

Schutzwirkung des Eucupin basicum auf Meerschweinchen-
ödem 144 A.

Unter Zusatz von Gummi arab. wird eine 2-proz., gleichmäßige Aufschwemmung der Eucupinbase in Aqu. dest. hergestellt. 0,1 und 0,2 ccm davon werden mit 0,1 ccm Meerschweinchenödem 144 in der Spritze gemischt und sofort Meerschweinchen in den Oberschenkel intramuskulär injiziert. Ebenso auch eine Mischung von 0,2 ccm Oedem und 0,2 ccm der 2-proz. Aufschwemmung der Eucupinbase, sowie 0,1 ccm Oedem mit 0,5 Aqu. dest. als Kontrolle.

IX. Eucupinbase 2-proz. 5. II.

	Oedem Eucupinbase	0,2 0,2	0,1 0,1	0,1 0,2	0,1 + 0,5 H ₂ O
1. Tag		0 ¹⁾	0	0	+
2. Tag		0 ²⁾	0	0	—
3. Tag		+	0	0	—
4. Tag		—	0	0	—

1) Geringe teigige Schwellung.

2) Starke teigige Schwellung.

Während das Kontrolltier bereits nach 24 Stunden an Gasbrand eingegangen war, blieben die mit 0,1 ccm Oedem und der gleichen, bzw. doppelten Dosis der 2-proz. Eucupin-aufschwemmung behandelten Tiere glatt. Bei Verwendung der doppelten Oedemmenge 0,2 ccm dagegen gelang es durch gleichzeitige Behandlung mit 0,2 ccm der 2-proz. Eucupin-aufschwemmung lediglich, den Gasbrandtod um 2 Tage zu verzögern.

Der nächste Versuch zeigt, daß dem Eucupin chinicum zwar auch eine deutliche Schutzwirkung auf die Gasbrand-infektion bei Meerschweinchen zukommt, daß dieselbe aber viel schwächer ist als die des chinasauren Isoktylhydro-cupreins, genau so, wie dies nach den vergleichenden Ver-suchen mit den entsprechenden doppelsalzsauren Salzen zu erwarten war.

Tabelle XXXVI.

Schutzwirkung des Eucupin chinicum auf Meerschweinchenödem 144 A.

0,1 ccm Oedem wird mit 1,0 ccm Eucupin chinicum in steigenden wässerigen Verdünnungen gemischt und sofort subkutan am Bauch eingespritzt.

	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag
1:250	0 ¹⁾	0 ¹⁾	0	0
1:500	0 ²⁾	0 ²⁾	⊕ ³⁾	
1:500	0 ²⁾	0 ²⁾	⊕ ⁴⁾	
1:1000	0 ³⁾	+		
1:1000	0 ³⁾	+		
Kontrolle 1	+			
Kontrolle 2	+			

1) Geringe teigige Schwellung.

2) Mäßige teigige Schwellung.

3) Aus dem Oedem wachsen Gasbrandbacillen, während im direkten Ausstrich keine vorhanden sind.

4) Aus dem Oedem wachsen keine Gasbrandbacillen.

Die, wie die Kontrollen zeigen, innerhalb 24 Stunden tödliche Gasbrandinfektion wird also durch gleichzeitige Injektion von 1,0 ccm Eucupin chinicum 1:1000 um 1 Tag verzögert. 1:500 läßt noch eine erhebliche teigige Schwellung und Oedembildung zustande kommen, die Tiere sterben am 3. Tag. Das Fehlen von Gas und von jeglicher Hämolyse charakterisiert dieses Oedem schon bei der Sektion als nicht infektiös und als rein toxisch. Dementsprechend ließen sich denn auch im direkten Ausstrich keine Bacillen nachweisen. Auch kulturell erwies sich das Oedem bei dem einen der beiden Tiere als steril, während aus dem anderen Gasbrandbacillen gezüchtet wurden. Die geringe Anzahl derselben in dem krankhaften Gewebe zeigt aber, daß das Versuchstier nicht der Bacillenwirkung erlegen sein kann, sondern ebenso wie das andere mit demselben Sektionsbefund an der Giftwirkung eingegangen ist.

Erst 1:250 rettete ein Versuchstier, nachdem auch hier am 1. und 2. Tag eine geringgradige teigige Schwellung vorhanden gewesen war.

Die sich an die oben geschilderten Untersuchungen über die Einwirkung der Chinaalkaloide auf das Gasbrandödemgift anschließenden Ueberlegungen führten nun nach Erledigung der besprochenen Kontrollen zu den folgenden Schutz-

versuchen mit giftschwachen Bacillengemischen. Denn es mußte angenommen werden, daß die Schutzwirkung des Isoktylhydrocupreins im Tierkörper um so stärker ist, je kleiner die für das Angehen der Infektion neben den Bacillen notwendige Giftmenge gewählt wird. Derartige Versuche boten schon deshalb ein besonders praktisches Interesse, weil sie Bedingungen setzten, wie sie auch bei einer Prophylaxe des menschlichen Gasbrandes vorliegen. Denn auch bei dem schußverletzten Soldaten, in dessen Wunde die Gasbrandbacillen eingeschleppt worden sind, ist zuerst die Menge der durch das Wachstum auf den Gewebetrümmern der Wunde gebildeten Gifte noch gering. Die Versuche gehen also von der Annahme aus, daß der Gasbrandbacillus allein im infektionsempfänglichen Organismus niemals zur Infektion führt. Dementsprechend sind denn auch gewaschene und also giftfreie Bacillenaufschwemmungen nicht imstande, Meerschweinchen unter den üblichen Bedingungen zu infizieren. So erwies sich in mehreren Versuchen z. B. 1,0 ccm einer Aufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung, welche die in 5—7 ccm Ausgangskultur erhaltenen abzentrifugierten Bacillen enthielt, nicht imstande, ein Meerschweinchen krank zu machen, während bei demselben Stamm (148) 0,01 ccm Meerschweinchenödem, also der 500.—700. Teil genügte, ein Tier tödlich zu infizieren.

Gibt man nun zu solchen avirulenten Bacillenaufschwemmungen geringe Mengen eines bakterienfrei filtrierten Giftes, z. B. in der Form des Oedemfiltrats, so erhält man wieder stark infektiöse Gemische von Gift und Bacillen. Diese wichtigen Beziehungen zwischen Gift und Bacillen, welche die Notwendigkeit des Vorhandenseins des ersteren für das Angehen der Infektion dartun, werden durch den folgenden Versuch erläutert.

Tabelle XXXVII.

15 ccm 24-stündiger Traubenzucker-Bouillonkultur 144 werden am 3. IV. zentrifugiert und der Bodensatz 1mal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und dann mit 3,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt.

3 Meerschweinchen zwischen 210 und 250 g werden mit 0,1, 0,04 und 0,02 ccm der so gewonnenen Kulturaufschwemmung unter die Bauchhaut

injiziert. Alle 3 Tiere bleiben gesund und werden nach 1 Woche aus der Beobachtung entlassen.

Zu diesen sicher unwirksamen Dosen der Kulturaufschwemmung werden nur geringe Mengen des bakterienfreien Oedemfiltrats vom 3. IV. (vgl. die letzten Versuche) zugesetzt, mit dem Erfolg, daß die Tiere nicht wie in den obigen Giftversuchen an langsamer Giftwirkung, sondern an rascher Infektion zugrunde gehen.

1) Beide Hinterfüße blau, 200 g.

4. IV. 0,2 ccm Kulturaufschwemmung, Verdünnung 1:5 = 0,04 ccm, gemischt mit 0,2 ccm Oedemfiltrat, Verdünnung 1:5 = 0,04 ccm.

5. IV. † gefunden. Brust- und Bauchhaut abgehoben durch große Gasmassen. Die Haare und die Epidermis auf der Brust lassen sich abstreifen. Die Brustmuskeln sind weich, morsch, sehen wie gekocht aus und sind durchlöchert. Die Bauchdecken sind durchtränkt von einer hämolytischen Flüssigkeit. In den Achselhöhlen und den Flanken geringe Mengen eines klaren, sulzigen, hämorrhagisch-hämolytischen Oedema.

2) Bauch blau. 200 g.

0,1 Kulturaufschwemmung, Verdünnung 1:5 = 0,02 ccm, gemischt mit 0,1 Oedemfiltrat, Verdünnung 1:5 = 0,02 ccm.

5. IV. 2 Uhr † = 24 Stunden nach der Infektion. Befund wie oben.

Die 3 mit 0,1, 0,04, 0,02 der gewaschenen Kulturaufschwemmung infizierten Meerschweinchen bleiben also gesund, dagegen genügt schon die Beigabe von 0,02 ccm Oedemfiltrat zu 0,02 ccm Kulturaufschwemmung, um ein Versuchstier innerhalb 24 Stunden an der Infektion eingehen zu lassen.

Nunmehr läßt es sich durch vergleichende Versuche dartun, daß zwar die Infektiosität von wenig gifthaltigen, jedoch sicher infektiösen Bacillenaufschwemmungen noch durch starke Verdünnungen von Isoktylhydrocuprein im Schutzversuch beim Meerschweinchen aufgehoben werden kann, daß dagegen bei Zugabe von größeren Giftmengen immer stärkere Isoktyllösungen zur Erzielung der Schutzwirkung notwendig sind.

Tabelle XXXVIII.

Vergleich der Schutzwirkung des Isoktylhydrocupreins bei Verwendung von giftschwachem und giftstarkem Infektionsstoff.

I. Herstellung eines bacillenfreien Gasbrandgiftes.

7. V. 5 Meerschweinchen werden mit 0,2 ccm Oedem 148 infiziert, von den am 8. V. und 9. V. verstorbenen Tieren wird das hämolytische Oedem mit der Pipette gewonnen und durch eine Tonkerze keimfrei filtriert.

9. V. Toxizitätseinstellung des so erhaltenen Gasbrandgiftes.

Fallende Dosen werden Meerschweinchen subkutan am Bauch injiziert.

- 1) No. 75, 250 g: 0,3 ccm Oedem.
10. V. Starke teigige Schwellung.
11. V. † gefunden. Sehr dickes, sulzig-glasiges Oedem mit vielen Hyperämien, besonders auf der Brust. Kein Gas, keine Hämolyse.
- 2) No. 100, 250 g: 0,1 Oedem.
10. V. Starke teigige Schwellung auf Brust und Bauch.
11. V. Ebenso.
12. V. † gefunden. Starkes, sulzig-glasiges Oedem, besonders am Hals.
- 3) No. 16, 200 g: 0,5 1:10 Oedem = 0,05 ccm.
10. V. 11 Uhr †. Starkes, sulzig-glasiges Oedem auf Brust und Bauch mit zahlreichen punktförmigen Hyperämien. Sehr starker, klarer Ascites.
- 4) No. 64, 220 g: 0,2 1:10 Oedem = 0,02 ccm.
10. V. 9 Uhr †. Befund wie bei 3.
Das erhaltene Gift tötet also ein Meerschweinchen von 220 g noch in einer Menge von 0,02 ccm innerhalb 24 Stunden.

II. Herstellung einer giftfreien Gasbrandbacillenaufschwemmung.

10. V. Ca. 60 ccm einer durch ein gehärtetes Papierfilter filtrierten 24-stündigen Traubenzucker-Bouillonkultur 144 A werden scharf zentrifugiert, die klare Bouillon von dem Bodensatz gut abgesaugt und dieser mit 6 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Je 0,05 ccm dieser Aufschwemmung werden nun mit steigenden Mengen des Oedemfiltrates vom 9. V. im Reagenzglas gemischt und dann sofort zur Infektion verwandt.

III. Gemische aus I und II.

A. 2 Meerschweinchen (230 und 200 g) erhalten subkutan am Bauch 0,05 ccm Bacillenaufschwemmung + 0,15 ccm Oedemfiltrat, gemischt mit 0,9 ccm steigender wässriger Verdünnungen von Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum zugemischt in der Spritze. Ein Tier (240 g) erhält das Gemisch der Bacillenaufschwemmung und des Oedems ohne Heilmittel und dient als Kontrolle.

B. 3 Meerschweinchen (200, 200, 180 g) erhalten 0,05 ccm Bacillenaufschwemmung + 0,05 Oedemfiltrat, also den 3. Teil der oben verwandten Giftmenge und werden mit 1,0 ccm wässriger Isoktylverdünnungen analog behandelt. Ein Tier (200 g) bleibt unbehandelt als Kontrolle.

C. 1 Meerschweinchen (170 g) erhält 0,05 ccm Bacillenaufschwemmung wie oben, mit 0,005 Oedemfiltrat, also bei gleicher Bacillenmenge nur den 10. bzw. 30. Teil der oben verwandten Menge subkutan am Bauch.

Das zum Versuch verwendete, leichteste Tier C, welches zu der Bacillenaufschwemmung nur 0,005 Oedemfiltrat, d. h. eine untertödliche Giftdosis erhalten hatte, bekam innerhalb 24 Stunden lediglich eine ganz flache Anschwellung am Bauch, welche bereits nach 48 Stunden wieder verschwunden war.

Die kleine Giftmenge genügte also nicht, den Gasbrandbacillen die Infektion zu ermöglichen. 0,05 und 0,15, also etwa 3- bis 9mal tödliche Giftdosen waren hierzu imstande, wie die folgende Tabelle zeigt, aus der auch die Ergebnisse der Schutzwirkung des Isoktylhydrocupreins abzulesen sind.

Tabelle XXXVIII A.

10. V.

	1. Tag		2. Tag		3. Tag	
	0,15	0,05	0,15	0,05	0,15	0,05
Oedemfiltrat						
Isoktylverdünnung						
1 : 500	0 ¹⁾	0	0 ¹⁾	0	0	0
1 : 2500	0 ²⁾	0 ¹⁾	+	0 ¹⁾	—	0
1 : 5000	—	0 ²⁾	—	0 ²⁾	—	0
Kontrolle	+	+				

1) Geringe teigige Schwellung.

2) Mäßige bis starke teigige Schwellung.

Analog mit unseren früheren Versuchen gelang also die Verhinderung einer sicheren Gasbrandinfektion mit 0,9 bzw. 1,0 ccm einer wässerigen Isoktyllösung 1 : 500, einerlei, wieviel Gift beigegeben war. Eine Verdünnung 1 : 2500 konnte dagegen den tödlichen Effekt der stark gifthaltigen Infektionsdosis nur mehr verzögern, nicht verhindern. Bei der schwach gifthaltigen Infektionsdosis dagegen gelang der Schutz noch mit einer Verdünnung 1 : 5000 oder mit 0,2 mg des doppelsalzsauren Salzes des Isoktylhydrocupreins.

Eine noch stärkere Schutzwirkung des Isoktylhydrocupreins zeigt auch der folgende Versuch, bei dem die verwendete Giftmenge gerade die an sich tödliche Dosis darstellt, die absolute Giftdosis also 3- bzw. 9mal kleiner ist als im letzten Versuch.

Tabelle XXXIX.

60 ccm 20-stündiger Traubenzucker-Bouillonkultur 144 A werden filtriert und dann zentrifugiert. Der Bodensatz wird mit 6,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und 0,2 ccm dieser Bacillenaufschwemmung zur Infektion benutzt. Dazu gemischt werden vorher als infektionsförderndes Gift 0,2 ccm eines Meerschweinchenödemfiltrates vom 18. IV. Dieses Gift hatte sich bei einer Einstellung als nur schwach wirksam bei subkutaner Injektion erwiesen. Denn 0,2 ccm hatten ein Meerschweinchen von 240 g in 24 Stunden getötet, während 0,1 ccm bei einem gleich schweren Tier nur vorübergehendes Oedem machte.

Zum Versuch werden nun 0,4 ccm einer Mischung der Bouillon-aufschwemmung und des Oedemfiltrats zu gleichen Teilen mit je 1,0

steigender Verdünnungen von Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum gemischt und sofort subkutan am Bauch injiziert. Die Kontrolle 1 bleibt unbehandelt. Die Kontrolle 2 erhält nur die halbe, die Kontrolle 3 den 4. Teil der Infektionsdosis.

	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag
1:500	0	0	0	0	0
1:1000	0 ¹⁾	0 ¹⁾	0	0	0
1:2500	0 ¹⁾	⊕			
1:5000	0 ²⁾	0 ²⁾	0 ²⁾	0 ¹⁾	0
1:10 000	0 ²⁾	0 ²⁾	0 ²⁾	⊕	
Kontrolle 1	†				
Kontrolle 2	†				
Kontrolle 3	0 ²⁾	0 ²⁾	0	0	0

1) Leichte teigige Schwellung.

2) Mäßige teigige Schwellung.

Die volle und die halbe Infektionsdosis erwies sich also als tödlich in 24 Stunden. Der 4. Teil der Infektionsdosis versagte. Zum Versuch wurde also eine doppelte oder höchstens 3-fach tödliche Dosis verwandt. Deren Wirkung wurde selbst durch eine Isoktylverdünnung 1:10 000 noch sehr erheblich beeinflußt. Zwar starb das Tier am 4. Tag, also mit starker Verzögerung, doch wurde bei der Sektion weder Gas noch Hämolyse nachgewiesen. Das vorhandene sulzig-glasige Oedem muß also als toxisch angesehen werden.

Auch das mit der Verdünnung 1:5000 behandelte Tier bekam zuerst eine starke Schwellung. Doch bildete sich diese in den folgenden Tagen wieder zurück, so daß das Tier geheilt am 5. Tag wieder entlassen werden konnte. Das mit Verdünnung 1:2500 behandelte Tier starb am 2. Tag ohne Gasbrand. Das mit 1:1000 behandelte Tier hatte lediglich eine unerhebliche teigige Schwellung, die bereits am 3. Tage wieder verschwunden war, während das Tier mit 1:500 bereits am 1. Tag glatt war.

Faßt man die Ergebnisse der beiden Versuche zusammen, so zeigt sich, daß, wenn in dem zur Gasbrandinfektion des Meerschweinchens nötigen Bacillen- und Giftgemisch die Oedemgiftmenge die einfach tödliche Dosis darstellt, selbst eine Verdünnung 1:10 000 von Isoktylhydrocuprein noch das Zustandekommen einer Infektion verhindern kann und eine Verdünnung von 1:5000

das Versuchstier rettet. Auch bei einer 3mal tödlichen Oedemgift-dose im Infektionsmaterial genügt die Verdünnung 1:5000 noch, während beim Vorhandensein von 9 tödlichen Gift-dosen neben den Bakterien selbst 1:2500 versagt. Die Schutzwirkung des Isoktylhydrocupreins ist also bei gleichbleibender Bacillenmenge im Infektionsmaterial davon abhängig, wieviel fertiges Gift darin enthalten ist, und zwar ist die Schutzwirkung des Isoktylhydrocupreins um so größer, je geringer die Menge des bei der Infektion bereits fertigen Oedemgiftes ist. Da nun die in den früher besprochenen Meerschweinchenschutzversuchen zur Infektion benutzten Oedeme stets reichlich Gasbrandbacillen enthielten, so können die dabei beobachteten Schwankungen bei Bestimmung der letzten wirksamen Verdünnung wohl nunmehr auf Schwankungen in dem Gehalt des Infektionsmaterials an präformierten Giften zurückgeführt werden.

Die Versuche mit Gemischen aus giftfreien Bacillen und bacillenfreien Oedemgiften weisen deutlich darauf hin, daß das Isoktylhydrocuprein bei der Prophylaxe des menschlichen Gasbrandes günstige Bedingungen finden würde. Denn in Gemeinschaft mit dem oben erwähnten Versuch, welcher die Wirkung auf das Oedemgift der Gasbrandbacillen direkt dartut, zeigen sie, daß dem Isoktylhydrocuprein außer seiner Wirkung auf die Bacillen selbst, welche sich in Abtötung und Verhinderung der Gärwirkung, sowie der damit einhergehenden Giftproduktion kundtut, auch noch eine Wirkung auf das fertige Gift zukommt. Es muß also bei frühzeitiger Behandlung einer infizierten Wunde mit Isoktylhydrocuprein gelingen, die Wirkung der ersten neugebildeten Gifte zu neutralisieren und damit ganz unabhängig von der Abtötung der Gasbrandbacillen die Progression des Gasbrandprozesses zu verhindern.

Den Mechanismus der Schutzwirkung des Isoktylhydrocupreins zu Beginn einer Erkrankung werden wir uns also so vorzustellen haben, daß das Heilmittel durch direkte Einwirkung auf die Bacillen deren Vermehrung oder doch zum mindesten ihr Wachstum unter Oedemgiftbildung hemmt, weiterhin aber imstande ist, geringe, bereits

gebildete Giftmengen unschädlich zu machen. Diese letztere Wirkung ist jedoch, wie unsere oben mitgeteilten Versuche zeigen, recht schwach, und daher wird es verständlich, daß dann, wenn eine Infektion im Tier bereits zu starker Oedembildung geführt hat, ein therapeutischer Effekt mit dem Präparat nicht mehr zu erzielen ist.

Nun setzt diese Giftbildung bei Verwendung von bacillenhaltigem Oedem zur Infektion der Meerschweinchen bereits in den ersten Stunden sehr stark ein. Dementsprechend macht es dann auch keinen Unterschied, ob man, wie in den oben angeführten Versuchen, das Infektionsmaterial und das Heilmittel unmittelbar vor der Injektion in der Spritze mischt, oder ob man sofort nach der Oedeminjektion die Alkaloidlösung nachspritzt. Schaltet man jedoch zwischen Injektion und Behandlung einen wachsenden Zeitraum ein, so gelingt zwar eine Heilung der Tiere bei Verwendung ziemlich starker Konzentrationen noch innerhalb 1—2 Stunden nach der Infektion, aber es sterben doch bei solchen Versuchen immerhin noch eine Anzahl von Tieren in den folgenden Tagen an der Wirkung des im Verlauf der Krankheit bereits gebildeten Giftes.

Tabelle XL.

Simultanversuch mit Stamm 144 A. 9. II.

0,1 ccm Meerschweinchenödem wird subkutan unter die Bauchhaut injiziert und durch dieselbe Kanüle 1 ccm von einer steigenden Verdünnung von Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum nachgespritzt.

	Isoktylhydrocuprein						Kontrollen	
	1:100		1:200		1:400			
1. Tag	0	0	0	0	0 ¹⁾	0	0 ²⁾	†
2. Tag	0	0	0	0	0	0	†	
3. Tag	0	0	0	0	0	0		
4. Tag	0	0	0	0	0	0		

1) Sehr geringe teigige Schwellung.

2) Große schwappende Gasödemblase.

Eine sichere tödliche Infektion mit Meerschweinchenödem Stamm 144 wird also verhindert, wenn man an den Ort der Infektion sofort 1 ccm Isoktylhydrocupreinverdünnung 1:400 nachspritzt. Versuche mit geringeren Konzentrationen liegen nicht vor.

Tabelle XLI.

Heilversuch mit Meerschweinchenödem 144 A. 12. II.

0,1 ccm Meerschweinchenödem einer Verdünnung 1:1 = 0,05 ccm wird Meerschweinchen subkutan unter die Bauchhaut injiziert. Nunmehr wird 1 ccm einer steigenden Verdünnung einer wässrigen Lösung von Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum entweder sofort durch dieselbe Kanüle nachgespritzt, oder aber nach steigenden Intervallen von $\frac{1}{2}$, bis zu 4 Stunden an die gut markierte Infektionsstelle gebracht.

	1. Tag			2. Tag			3. Tag		
	1:100	1:200	1:400	1:100	1:200	1:400	1:100	1:200	1:400
0 Std.	0	0	0 ¹⁾	0	0	0	⊕	0	⊕
$\frac{1}{2}$ „	0 ¹⁾	0 ¹⁾	0 ²⁾	0	0	†	0	0	
1 „	0 ¹⁾	0 ¹⁾	0 ¹⁾	0	0	†	⊕	0	
2 „	0 ¹⁾	0 ²⁾	0 ²⁾	†	†	†			
4 „	0 ²⁾	†	†	†					
Kontrolle	†	†	†						

1) Leichte teigige Schwellung.

2) Mäßige bis starke teigige Schwellung.

Das Angehen einer sicheren Infektion läßt sich also bei gleichzeitiger Behandlung durch 1 ccm der Isoktylverbindung 1:100 bis 1:400 vermeiden. Auch $\frac{1}{2}$ Stunde und 1 Stunde nach der Infektion wird das Fortschreiten der Erkrankung durch Injektion von Verdünnungen 1:100 und 1:200 noch verhindert. Eine Isoktylverbindung 1:400 verzögert zwar noch das Fortschreiten der Erkrankung, kann sie jedoch nicht mehr zum Stillstand bringen. 2 und 4 Stunden nach der Infektion versagten selbst Konzentrationen von 1:100, wenn ihnen auch noch eine verzögernde Wirkung auf den Krankheitsablauf zukommt.

Tabelle XLII.

Heilversuch mit Meerschweinchenödem 144 A. 21. II.

0,1 ccm Oedem wird subkutan unter den Fußrücken injiziert und $\frac{1}{4}$ Stunde danach 1 ccm einer Isoktylverdünnung 1:100 proximal davon injiziert.

Oktyl	Intervall	1. Tag		2. Tag	3. Tag	4. Tag
1,0 1:100	$\frac{1}{4}$ Std.	0 ¹⁾	0 ²⁾	0 ⊕	0	0
Kontrolle		†				

1) Leichte teigige Schwellung.

2) Starke teigige Schwellung.

Auch hier gelang es durch Behandlung mit einer Isoktylverbindung 1:100, das Fortschreiten der Infektion aufzuheben,

den Gasbrandtod der beiden Versuchstiere zu verhindern. Jedoch starb eines der beiden Tiere am 2. Tag an der Wirkung der mit der Infektion eingespritzten und im Verlauf der Erkrankung neu gebildeten Gifte.

Aehnlich in seinem Ergebnis verlief der folgende Versuch.

Tabelle XLIII.

Heilversuch mit Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum.

15. II. 0,1 ccm Oedem wird Meerschweinchen subkutan in der Mittellinie am Bauch injiziert, die Stelle des Depots markiert durch Abschneiden eines Haarbüschels, und nach 1 bzw. 2 Stunden werden wässrige 1- bzw. 1/2-proz. Lösungen von Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum an dieselbe Stelle injiziert. 2 Kontrollen bleiben unbehandelt.

Verdünnung	Intervall	1. Tag				2. Tag	3. Tag	4. Tag
1:100	1 Std.	0 ²⁾	0 ¹⁾	0 ¹⁾	0 ¹⁾	† ⊕ 0 0	0 0 0	⊕ 0
1:100	2 „	0 ²⁾		0 ²⁾	0 ¹⁾	0 ⊕ 0	⊕ 0	0
1:200	1 „	†		0 ¹⁾		0	0	0
1:200	2 „	0 ²⁾		0 ¹⁾		† ⊕		
Kontrolle		†	†					

1) Geringe Schwellung.

2) Starke Schwellung.

Von den vier, 1 Stunde nach der Injektion mit einer Verdünnung 1:100 behandelten Tieren sind zwei bereits am 2. Tage glatt. Eines davon stirbt am 4. Tag interkurrent ohne Gasbrand. Ein weiteres Tier stirbt am 2. Tag ohne Infektion, vielleicht an der Wirkung der bei der kurzdauernden Infektion gebildeten Gifte. Jedoch zeigt die Sektion lediglich eine zehnpfennigstückgroße, graugelbe Schwarte. Ein drittes Tier stirbt an Gasbrand, jedoch mit Verzögerung um 1 Tag. Von den drei, 1 Stunde nach der Infektion mit 1,0 ccm 1:100 Isoktylhydrocuprein behandelten Tieren starb also nur eines an Gasbrand.

Auch bei der Behandlung 2 Stunden nach der Infektion konnte das Fortschreiten der Infektion verhindert werden. 2 Tiere starben jedoch am 2. und 3. Tag ohne Gasbrand, während eines geheilt am 4. Tag entlassen wurde. Die Verdünnung 1:200 rettete 1 Stunde nach der Infektion noch eines von 2 Tieren, war aber bei dem anderen wirkungslos.

2 Stunden nach der Infektion konnte diese Verdünnung nur noch eine Verzögerung des Todes bewirken.

Bessere Behandlungsmöglichkeiten als das Meerschweinchen bietet vielleicht, wie der folgende Versuch zeigt, die Gasbrandinfektion des Kaninchens.

Tabelle XLIV.

Zu dem Versuch wurde ein frisches Meerschweinchenödem Stamm 144 verwandt, das in Menge von 0,1 ccm ein Kaninchen von 2270 g innerhalb 24 Stunden unter den Erscheinungen der Gas- und Oedembildung tödlich infizierte. 0,1 ccm dieses Oedems wird am 2. IV. einem Kaninchen von 1650 g subkutan unter die Bauchhaut injiziert. Nach 2 $\frac{1}{2}$ Stunden bemerkt man an der Injektionsstelle ein leichtes Oedem, das nach beiden Seiten hin, besonders nach unten die markierte Injektionszone überschritten hat. Die ödematöse Partie im Unterhautzellengewebe ist ca. 10 cm lang und 1–2 cm breit. Sie wird mit 7,5 ccm einer 1-proz. wässrigen Lösung von Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum umspritzt.

Am 3. IV. ist das Tier munter. Auf der Brust befindet sich eine große schwappende Geschwulst in etwa Gänseeigröße. Der Behandlungswall der gestern ödematösen Partie ist nach oben hin in der Mittellinie durchgebrochen. Diese neue ödematöse Stelle wird mit 10 ccm einer 1-proz. wässrigen Lösung umspritzt. Nach 4 Stunden werden 9 ccm davon in die Geschwulst selbst injiziert.

4. IV. Tier munter, frißt. Zwei kleine dünne Oedemstränge, der eine links an der Brustseite in etwa Kleinfingerdicke, der andere ebensolche in der rechten Flanke.

5. IV. Munter. An der Seite des Oedemstranges in der Flanke von gestern ein etwa pflaumengroßes Oedem. In dieses und brustwärts davon 5 ccm 1-proz. Lösung von Isoktylhydrocuprein, nach 4 Stunden noch einmal dieselbe Menge in die Geschwulst injiziert.

6. IV. An der Stelle des Flankenödems von gestern ganz geringe, leichte Schwellung. Tier frißt sehr viel.

7. IV. Munter. 1450 g (200 g abgenommen). In der Flanke noch eine ganz leichte teigige Schwellung. Auf dem Bauch eine fast handteller-große rote Partie, welche der am Infektionstag umspritzten ödematösen Stelle entspricht, in der Verschorfung.

10. IV. Munter. Kein Oedem. Die Schorfpattie am Bauch ist überall völlig trocken. Ringsherum ein geringer reaktiver Wall.

12. IV. Munter. Frißt.

13. IV. † gefunden. An der verschorften Partie ist die ganze Bauchdecke zusammengebacken zu einer braunroten, harten, dünnen Decke. Ringsherum ist eine fingerbreite Schicht, in der das subkutane Gewebe völlig trocken ist. Zumeist aber besteht diese Randpartie aus einer Infiltration des ganzen Unterhautzellgewebes mit einer dicken gelbgrauen Fibrinmasse, aus der sich nur spärlich Eiter auspressen läßt. Im Abstrich sehr zahlreiche Leukocyten. Keine Bakterien. Innere Organe, z. B. Traubenzuckerkulturen aus 3 verschiedenen Stellen des reaktiven Gewebes ergeben reichliche plumpe, unbewegliche anaerobe Stäbchen neben Kokken.

Eine rasch fortschreitende Gasbrandinfektion beim Kaninchen konnte also durch eine 2 Stunden nach der Infektion einsetzende, 4 Tage lang fortgesetzte Behandlung mit 1-proz. wässriger Lösung von Isoktylhydrocuprein bihydrochloricum zum Stillstand und zur Ausheilung gebracht werden. Während die durch ein rein toxisches Oedem infiltrierte Gewebspartien teils ein restitutio ad integrum zeigten, teils mit Fibrin und Leukocyten infiltriert waren, fiel die gasbrandige Gewebspartie der trockenen Nekrose anheim. In den ausgeheilten Partien können spärliche Gasbrandbacillen kulturell noch nachgewiesen werden.

Somit gelingt es wohl durch reichliche Gaben stärkerer wässriger Lösungen von Isoktylhydrocuprein, sowohl bei Meerschweinchen wie beim Kaninchen trotz des rapiden Krankheitsverlaufes einen therapeutischen Effekt zu erzielen. Immerhin bleibt dieser hinter der Schutzwirkung der gleichen Lösung weit zurück. Der Grund hierfür ist wohl in erster Linie in der äußerst raschen, im Körper einsetzenden Oedem- und Giftbildung zu suchen. Sind doch bei den infizierten Meerschweinchen und Kaninchen bereits nach 1—2 Stunden ganz erhebliche Oedemmengen nachweisbar. Ein weiterer Grund ist in der Tatsache zu suchen, daß das Salz des Isoktylhydrocupreins aus seinen wässrigen Lösungen wohl nur langsam innerhalb des Gewebes sich durch Diffusion ausbreitet; seine Wirkung wird also im wesentlichen auf den Ort der Infektion und dessen nähere Umgebung beschränkt bleiben.

Zusammenfassung.

1) Das Wachstum der Gasbrandbacillen in Traubenzuckeragar wird durch Chinin und Optochin nur in starken Konzentrationen (1:2500) gehemmt. Das Isoamylhydrocuprein (Eucupin) ist 8mal wirksamer, das Isoktylhydrocuprein (Vuzin) 16mal wirksamer. Die höheren Homologen der Hydrochinreihe wirken wieder schwächer.

2) Die Wirkung des Eucupins und Isoktylhydrocupreins erstreckt sich auf alle geprüften 12 tierpathogenen Gasbrandstämme, welche (nach der Aschoffschen Nomenklatur) teils

der immobilen, teils der mobilen Butyricusgruppe, teils der Putrificusgruppe angehörten.

3) Aehnliche Wirkungen wie den salzsauren Salzen kommen der Alkaloidbase, dem chinasauen Salz der beiden Verbindungen, sowie dem salzsauren Salz der entsprechenden Toxine der beiden Verbindungen zu.

4) Die Wirkung der Verbindungen ist als Entwicklungshemmung bzw. Abtötung der Bacillen aufzufassen. Auch sporenhaltiges Material wird abgetötet.

5) Festigung der Gasbrandbacillen gegen das Isoktylhydrocuprein im Reagenzglas gelang nicht.

6) Rote Blutkörperchen können das Isoktylhydrocuprein an sich binden.

7) Physikalische Schädigungen wie das Licht der Quarzlampe wirken nur auf die sporenlosen Gasbrandbacillen abtötend.

8) Chinin und Optochin versagen im Tierversuch.

9) Eucupinkonzentrationen bis zu 1:1000 schützen Meerschweinchen vor einer Infektion mit der mehrfach tödlichen Dosis Oedemsaft. Vom Isoktylhydrocuprein (Vuzin) genügen hierzu geringere Konzentrationen (bis zu 1:5000).

10) Die Schutzwirkung des Isoktylhydrocupreins (Vuzin) ist bei gleichbleibender Bacillenmenge um so stärker, je kleiner die Menge des bei der Infektion mitinjizierten fertigen Giftes ist.

11) Eine 10mal tödliche bacillenfreie Oedemgiftmenge wird durch Isoktylhydrocuprein 1:500 unwirksam gemacht.

12) Eine Vuzinlösung 1:100 und 1:200 kann 1 Stunde, auch noch 2 Stunden nach der Infektion die Heilung des bereits im raschen Fortschreiten begriffenen infektiösen Prozesses beim Meerschweinchen bewirken. (G. C.)

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie (Direktor: Geheimerat Prof. Dr. Uhlenhuth); Abteilung für Typhusbekämpfung (Leiter: Prof. Dr. Ph. Kuhn) zu Straßburg im Elsaß.]

Ueber Agglutination bei Paratyphus A.

Von Dr. **Max Uckermark.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. August 1917.)

Im Jahre 1898 berichtet der Amerikaner Gwyn (13) über einen Fall aus dem John Hopkins-Hospital in Baltimore, der die klassischen Zeichen des Typhus abdominalis bot, ohne daß Typhusbacillen von dem Serum des Kranken verklebt oder im Blute und den Ausscheidungen gefunden worden wären. Dagegen gelang es, aus dem Blute einen typhusähnlichen Bacillus zu züchten, der agglutiniert wurde, und den Gwyn in ätiologischer Beziehung zur Krankheit setzte. Er stellte ihn auf Grund der morphologischen, Kultur- und Immunitätsbefunde zwischen den Eberth-Gaffkyschen und die Colibacillen und nannte ihn im Anschluß an einen von Gilbert geprägten Ausdruck: Para-Colonbacillus. Wenige Jahre später, 1901, beschreibt Schottmüller (42) zwei Gruppen von Erregern, die in einer Reihe von Fällen das klinische Bild des Unterleibstyphus hervorgerufen hatten, aber in biologischer und agglutinatorischer Hinsicht sich mannigfach vom Typhusbacillus unterschieden. Der Autor bezeichnet seinen Erreger als Paratyphusbacillus. Die Schottmüllerschen Befunde werden 1903 von Brion und Kayser (10) bestätigt und von ihnen die Ausdrücke Paratyphus A und B angewandt. Der Gwynsche Para-Colonbacillus entspricht dem Typus A von Brion und Kayser.

Während nun in der Folgezeit dem Typus B größeres Interesse entgegengebracht wurde und über ihn eine reiche Literatur entstand, fand der Typus A nur geringe Beachtung von seiten der Forscher. Das erklärt sich daraus, daß er in Deutschland und auch im Auslande nur selten ge-

10*

gefunden wurde. 1906 schreibt Kolle (24): „Der Typus A des Paratyphusbacillus kommt als verbreiteter Krankheitserreger nicht in Frage. Sein Vorkommen ist eine Rarität und seine ätiologische Bedeutung noch nicht bewiesen.“ 1913 weisen Uhlenhuth und Hübener (2) in Kolle-Wassermann darauf hin, daß der Paratyphus A nur geringe praktische Bedeutung besitze. Und 1914 sagt Jochmann (46) in seinem Lehrbuch der Infektionskrankheiten: „Der Bacillus paratyphosus A ist viel seltener als der Paratyphusbacillus B und spielt deshalb für die Pathogenese des Menschen nur eine geringe Rolle.“ Im Frieden sind diese Urteile, wenigstens für Deutschland, sicher berechtigt. Jetzt im Kriege treffen sie nicht ganz zu. In den letzten 2 Jahren ist über Auftreten von Paratyphus A mehrfach berichtet worden. Eine außergewöhnlich große praktische Bedeutung ist aber auch heute dem Paratyphus A nicht beizumessen. Sein vermehrtes Auftreten betrachtet Lehmann (24—29) als ein Geschenk unserer Feinde, weil eine von ihm beobachtete Epidemie von 27 Fällen auf einen Fremdenlegionär zurückzuführen war, der als Bacillenträger entlarvt wurde, und zweitens Paratyphus A und B in tropischen und subtropischen Ländern ungleich häufiger vorkomme als bei uns.

In Straßburg hat Tabora (48) 1915 auf vermehrtes Auftreten von Paratyphus A hingewiesen. Dieselbe Beobachtung machte die Bakteriologische Anstalt für Elsaß bereits 1914. Im Herbst 1916 gelangte erneut eine Reihe von Paratyphus A-Fällen zur Untersuchung, die sowohl Militär als auch Zivil berührten.

Interessante Feststellungen bezüglich des agglutinatorischen Verhaltens eines der geprüften Stämme haben den Leiter der Bakteriologischen Anstalt, Herrn Prof. Dr. Kuhn, veranlaßt, mich mit der weiteren Prüfung dieses Stammes und der agglutinatorischen Verhältnisse bei Paratyphus A überhaupt zu beauftragen.

Zur Morphologie und Biologie des Paratyphus A.

Die Grundlage für die Beurteilung von Mikroorganismen bilden Morphologie, kulturelles Verhalten und Immunitätsreaktionen. Ueber die Morphologie der Paratyphus A-Bacillen liegen ziemlich einheitliche Angaben vor. Die meisten Autoren bezeichnen sie als lebhaft bewegliche Stäbchen, die etwas kürzer oder gleich lang erscheinen wie Typhusbacillen. Ich habe den Eindruck gewonnen, daß die Paratyphus A-Stäbchen etwas kürzer sind als die Eberth-Gaffkyschen Bacillen. Von den Immunitätsreaktionen, soweit sie die Verklebbarkeit der Paratyphus A-Bacillen betreffen, handelt der Hauptteil der Arbeit. Ueber die kulturellen Eigenschaften finden sich selbst in der allerneuesten Literatur nicht ganz einheitliche Angaben. Das liegt zunächst einmal daran, daß die Autoren nicht durchweg die gleichen Nährböden benutzen, und deshalb auch die

Beurteilung nicht eine vollkommen einheitliche sein kann. Zweitens beruht es aber auch darauf, daß an die Nährböden Ansprüche gestellt werden, denen sie aus äußeren Gründen nicht genügen können. Ich meine speziell die Zuckernährböden. Schon Kutscher und Meinicke (26) betonen 1906, daß dabei nach früheren eigenen und zahlreichen Erfahrungen anderer Autoren eindeutige Ergebnisse nicht erwartet werden können. Zur Beleuchtung dieser Tatsache habe ich aus der neuesten Literatur 2 Versuchsreihen über das Verhalten von Paratyphus A-Bacillen gegenüber verschiedenen Zuckerarten nebeneinander gestellt. Daneben habe ich einige eigene Versuche gereiht.

	Bieling (7)	Lehmann (28)	Eigene Untersuchung
Saccharose	0	0	0
Laktose	0	0	0
Maltose	R	G R	0
Dextrose	G R	G R	G R
Lävulose	G R	nicht untersucht	nicht untersucht
Mannose	G R	G R	dgl.
Galaktose	G	G R	"
Arabinose	0	G R	"
Rhamnose	G R	G R	"
Xylose	0	nicht untersucht	"
Mannit	G R	G R	"

G bedeutet Gärung, R = Rötung.

Agglutination bei Paratyphus A.

A. Die agglutinatorischen Beziehungen zwischen Paratyphus A-Bacillen und homologem Immunserum.

Ueber typisches und atypisches Verhalten von Paratyphus A-Bacillen zu Paratyphus A-Immunserum bestehen nur in sehr beschränktem Umfange Angaben. Es ist bekannt, daß Typhusbacillen, die frisch aus dem Körper gezüchtet worden sind, zuweilen sehr geringe Neigung zeigen, durch spezifisches Immunserum verklebt zu werden. Man weiß auch, daß die Reaktion des Nährbodens auf die agglutinatorischen Eigenschaften der Erreger Einfluß auszuüben vermag, ferner daß nicht jeder Kranke in gleichem Maße in seinem Serum spezifische Antikörper erzeugt und daß nicht jedes Tier sich gleichmäßig zur Herstellung künstlicher Immunsera eignet. Soweit überhaupt Mitteilungen für Paratyphus A in dieser Hinsicht vorliegen und soweit meine eigenen Erfahrungen reichen, bestehen darin keine Besonderheiten. Ich möchte betonen, daß ich bei Beobachtung der üblichen Vorsichtsmaßregeln stets eine einwandfreie Reaktion erhielt.

Zupnik (49) weist allerdings 1904 darauf hin, daß Paratyphus A-Stämme von Paratyphus A-Immunseris verschiedener Herkunft sehr verschieden stark verklebt werden können. Doch wird diese Arbeit von Kutscher und Meinicke (26) 1906 einer scharfen Kritik unterzogen. 1910 referiert Schöne (41) über Arbeiten von Morgan und von Uhlenhuth und Hübener, die über Paratyphus A-Bacillen tierischen Ursprungs handeln. Er selbst berichtet auch über einen entsprechenden Fall. Morgan erhielt bei der Untersuchung von Faeces und Abschabungen von der Darmschleimhaut von Kaninchen, Meerschweinchen, Schweinen, Schafen und einem Kalbe, sowie einem Pferde 10 Kulturen, die in ihrem Verhalten gegenüber Kohlehydraten, sowie in ihren sonstigen Eigenschaften im wesentlichen dieselben Merkmale aufwiesen wie Paratyphus A-Bacillen in ihrer Reaktion gegenüber 4 künstlichen Paratyphus A-Immunseris, jedoch gar keine Verwandtschaft mit diesen zeigten. Dazu sei bemerkt, daß Paratyphus B-Bacillen aus dem Tiere unter Umständen nicht durch Immunsera verklebt werden, die mit menschlichen Paratyphus B-Bacillen hergestellt wurden, während sie sofort positive Reaktion zeigen, sobald sie mit Immunseris zusammengebracht werden, die durch Behandlung mit tierischen Paratyphus B-Bacillen gewonnen wurden. Leider fehlen mir nähere Daten über die Morganschen Sera. Uhlenhuth und Hübener haben später bei Versuchen über die Schweinepest aus den Organen von Ferkeln, die mit keimfrei gemachten Filtraten von Schweinepestvirus infiziert worden waren, 3 Stämme von Bacillen gezüchtet, die sich nicht nur kulturell, sondern auch agglutinatorisch als Paratyphus A-Bazillen erwiesen, indem sie von Paratyphus A-Immunserum vom Titer 2000 bis zur Grenze verklebt wurden. Gleichwohl sprechen die Autoren nur von Paratyphus A-ähnlichen Stämmen. Schöne selbst züchtete aus einer Salamiwurst, durch deren Genuß ein junges Mädchen erkrankte, während die anderen Personen, die davon gegessen hatten, gesund blieben, ein Stäbchen, das sich kulturell wie Paratyphus A verhielt, agglutinatorisch aber kein einwandfreies Ergebnis lieferte. Es wurde durch ein Serum aus dem Institut für Infektionskrankheiten mit dem Titer 800 bis zu der Verdünnung 1:200 und durch ein Serum mit dem Titer 12 000, das der Autor aus einem Kaninchen gewann, bis zu einer solchen von 1:500 verklebt. Die praktische Bedeutung dieser Befunde leuchtet ohne weiteres ein. Obwohl ich von meinem eigentlichen Thema abweiche, möchte ich doch darauf hinweisen, da man sie in neuerer Zeit völlig zu vergessen scheint und lediglich auf die Uebertragung vom Menschen achtet. Zweifellos spielt diese die Hauptrolle. Doch muß man andererseits auch bedenken, daß die Frage, inwieweit der *Bacillus paratyphosus A* als Nahrungsmittelvergifter in Betracht kommt, von grundsätzlicher Bedeutung ist. Es dürfte von Interesse sein, daß Jochmann (46) in seinem Lehrbuch der Infektionskrankheiten 1914 den *Bacillus paratyphosus A* ausschließlich als Nahrungsmittelvergifter auffaßt, der hauptsächlich durch Wasser und Milch übertragen werde, wobei aber zu bedenken sei, daß man ihn auch in den Faeces von Schlachttieren finde.

Eigene Versuche.

In einer Reihe von Versuchen habe ich Paratyphus A-Stämme in ihrem agglutinatorischen Verhalten gegenüber einem Paratyphus A-Immunserum vom Titer 5000 und einem solchen vom Titer 600 geprüft.

Die Ablesung erfolgte makroskopisch unter Nachprüfung durch das Agglutinoskop von Kuhn und Woithe nach 3-stündigem Aufenthalt der angesetzten Proben bei 37° und nach weiterem 16-stündigen Stehen bei Zimmertemperatur. Die verwandten Sera waren Kaninchensera und stammten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt. Bei 6 Stämmen wurde das agglutinatorische Verhalten in längeren Reihen von Ueberimpfungen geprüft. Die Ergebnisse dieser letzten Untersuchungen finden sich in den Tabellen unter eigenen Versuchen im Abschnitt B.

Paratyphus A-Stämme	Paratyphus A-Serum Titer 600		Paratyphus A-Serum Titer 5000	
	Verklebung		Verklebung	
	nach 3 Std. bei 37°	nach weiteren 16 Std. im Zimmer	nach 3 Std. bei 37°	nach weiteren 16 Std. im Zimmer
G 33. Ue.	1000 ¹⁾	1000	5 000	5 000
T 15. „	2000	5000	5 000	10 000
465 14. „	2000	2000	10 000	10 000
518 11. „	2000	2000	10 000	10 000
Franz 10. „	1000	1000	2 000	5 000
510 12. „	2000	2000	5 000	10 000
386 15. „	1000	1000	5 000	10 000
352 20. „	2000	5000	5 000	10 000
Hochstätter	2000	2000		
Eichhorn	2000	5000		
Scheibenphlug	2000	2000		
A 2	2000	5000		
Reindel	1000	2000		

Ue. = Ueberimpfung.

Zusammenfassung:

1) Paratyphus A-Bacillen werden, soweit sie aus menschlichen Ausscheidungen stammen und kulturell einwandfrei sind,

1) Die Zahlen in allen tabellarischen Zusammenstellungen geben den Grad der Serumverdünnungen an, bei dem die geprüften Stämme noch einwandfrei verklebt wurden. Statt 1000, 2000 usw. ist zu lesen: 1:1000, 1:2000 usf.

von Paratyphus A-Immunseris, die mit menschlichen Paratyphus A-Bacillen gewonnen worden sind, in der Regel bis zur Titergrenze und darüber hinaus verklebt. Geringe Schwankungen kommen vor.

2) Paratyphus A-Bacillen aus tierischen Ausscheidungen können ein völlig indifferentes Verhalten zeigen. Doch sind die einschlägigen Verhältnisse noch nicht so weit geklärt, daß ein abschließendes Urteil gefällt werden könnte.

B. Die agglutinatorischen Beziehungen zwischen Paratyphus A-Bacillen und heterologen Immunseris.

I. Bei der Verwendung künstlichen (tierischen) Immunserums,

II. bei der Verwendung natürlichen (Kranken-)Immunserums.

I. Paratyphus A-Bacillen und künstliches (tierisches) heterologes Immunserum.

Brion und Kayser (10) lassen 1902 ein stark wirkendes Typhusimmunserum auf einen von ihnen gezüchteten Paratyphus A-Stamm einwirken und erhalten keine Verklebung.

Hoffmann (19) immunisiert im gleichen Jahre ein Kaninchen mit Typhus bis 2100, mit Paratyphus B bis 1400, mit Coli bis 2100, mit Typhus und Paratyphus B gleichzeitig bis 800 bzw. 600. Mitagglutination von Paratyphus A-Bacillen erfolgt durch das Typhusimmunserum bis zu der Verdünnung 1:50, das Paratyphus B- und Coliserum, sowie durch das gleichzeitig Typhus- und Paratyphus B-Antikörper enthaltende nicht.

1905 prüft Lippschütz (32) das Verhalten von 5 Typhusseris gegenüber verschiedenen pathogenen Erregern, darunter auch gegenüber Paratyphus A-Bacillen. Die Sera haben als Titer zweimal 20 000, zweimal 10 000, einmal 600. Paratyphus A-Bacillen werden von keinem Serum verklebt. Lippschütz führt vergleichenderweise einen Befund von Bruns und Kayser an (Bd. 39 der Zeitschr. f. Hygiene). Hier werden Paratyphus A-Bacillen mit einem Typhusserum vom Titer 50 000 zusammengebracht und bis zu der Verdünnung 1:250 verklebt.

Im gleichen Jahre immunisiert Korte (25) 3 Kaninchen, 2 mit demselben, 1 mit einem anderen Paratyphus B-Stamm und entnimmt von jedem 2mal Blut. Das 1. Mal während, das 2. Mal nach beendeter Immunisierung. Das Ergebnis ist:

	Stamm	Ver- klebung	Stamm	Verklebung
Kaninch. I: 1. Entnahme	B	10 000 ¹⁾	A	0 (bei einer Verdünnung von 1:40)
2. „	B	20 000	A	0 dgl.
Kaninch. II: 1. „	B	160 000	A	40
2. „	B	10 000	A	40

Bei der 2. Entnahme war das Tier kachektisch. Es kam nachher zum Exitus.

Kaninch. III: 1. Entnahme	B	5 000	A	10
2. „	B	1 200	A	10

Das Tier bekam während der Immunisierung die Räude. Die zweite Blutentnahme zögerte sich sehr lange hinaus.

Porcile (36) benutzt 1905 7 Typhusimmunsera vom Titer 2000, 3 Paratyphus B-Sera vom Durchschnittstiter 300, 1 Gärtner-, 2 Coli- und 1 Faecalis alcaligenes-Serum zu Agglutinationsversuchen gegenüber verschiedenen Erregern, darunter auch 2 Paratyphus A-Stämmen, deren einen er als Straßburg A, und deren anderen er als Schottmüller A bezeichnet. Er findet:

Stämme	Verklebung						
	Sera						
	Ty 1	Ty 2	Ty 3	Ty 4	Ty 5	Ty 6	Ty 7
Straßburg A	100	50	20	20	50	20	nicht geprüft
Schottmüller A	nicht geprüft	50	20	nicht geprüft	50	20	20

Stämme	Verklebung						
	Sera						
	B 1	B 2	B 3	Gärtner	Coli 1	Coli 2	Faecal. alcalig.
Straßburg A	(20 ±)	20	20	(20 ±)	50	0	0
Schottmüller A	(20 ±)	20	50	0	50	0	(20 ±)

1906 befassen sich Kutscher und Meinicke (26) eingehend mit Immunitätsreaktionen bei Paratyphus A- und B-, Enteritis- und Mäusetyphus-Bacillen. Dabei prüfen sie das agglutinatorische Verhalten von 5 Paratyphus A-Stämmen gegenüber verschiedenen Immunseris. Es handelt sich um die Stämme Müller und Barg von Schottmüller, Brion-

1) In allen tabellarischen Zusammenstellungen bezeichnen die Ziffern den Grad der Serumverdünnung, bei der noch eine deutliche Verklebung stattfand. Nicht ganz einwandfreie Ziffern sind eingeklammert und mit ± versehen.

Kayser und Hewlet, die den Verfassern von Bonhoff überlassen wurden, und die Laboratoriumskultur.

3 verschiedene Paratyphus B-Sera verklebten die 5 Paratyphus A-Stämme nur sehr gering. Dasselbe Bild zeigte Mäusetyphusserum. Enteritisserum vom Titer 2000 und Typhus-Pferdeserum vom Titer 10 000 zeigten folgendes Ergebnis:

Stämme (Paratyphus A)	Verklebung	
	Sera	
	Enteritis	Pferdetyphus
Laboratoriumsstamm	50	200
Müller	100	50
Barg	50	100
Brion-Kayser	(50)	200
Hewlet	(50)	100

1908 benutzte Groß (16) zu Agglutinationsversuchen 3 Meer-schweinchenimmunsere, die er mit 3 verschiedenen Typhusstämmen hergestellt hatte. Alle 3 Sera beeinflussten Paratyphus A-Bacillen nur wenig:

Stamm	Verklebung		
	Sera		
	Ty 1	Ty 2	Ty 3
A	50	25	50

Die Sera wurden an den 5 Typhusstämmen geprüft, mit denen sie erzeugt worden waren. Serum 1 verklebte Typhusstämmen 1—3 in den Verdünnungen 1:1600, 1:400 und 1:100, Serum 2 in den Verdünnungen 1:100, 1:200, 1:100, Serum 3 in den Verdünnungen 1:400, 1:25, 1:800.

1908 berichten Baermann und Eckersdorff (13), daß 5 Paratyphus A-Stämme, die von einem Paratyphus A-Immunserum mit dem Titer 2000 annähernd bis zur Titergrenze verklebt wurden, durch ein Typhusserum vom Titer 10 000 nur in einem Falle eine einwandfreie Beeinflussung in der Verdünnung 1:100 erfuhren.

1910 agglutiniert Purjesz (37) mit einem Typhuskaninchenserum den eigenen Stamm in der Verdünnung 1:250, einen Paratyphus A-Stamm 1:180, einen anderen 1:100; mit einem Paratyphus B-Serum den eigenen Stamm in der Verdünnung 1:1000, einen Paratyphus A-Stamm 1:100, einen anderen kaum 1:100.

1911 erhält Springer (43) als Mitagglutination von Paratyphus A-Bacillen durch ein Typhusserum vom Titer 50 000 den Wert 1:100, durch ein Paratyphus B-Serum vom Titer 50 000 1:800, durch ein Gärtner-serum vom Titer 25 600 1:200, durch ein Schweinepestserum vom Titer 6400 1:100.

1916 gibt Svestka (45) an, daß Stämme, die aus 13 verschiedenen Fällen von Paratyphus A gezüchtet wurden, durch ein Paratyphus A-

Immunserum mit dem Titer 3000 eine Verklebung bis weit über die Titergrenze hinaus erfuhren, teilweise bis 12 000. Setzt man den Endtiter gleich 1, so ergibt das einen 4-fachen Agglutinationswert. Durch hochwertiges Typhus- und Paratyphus B-Immunserum wurden sie nicht verklebt.

Frenzel (15) beschreibt einen Fall von Nephroparatyphus A, der unter dem Bilde der Septikämie zum Exitus kommt. Der gewonnene Stamm ergibt als Agglutinationsbild:

Stamm	Verklebung			
	Sera			
	A 8000	Ty hochwertig	B hochwertig	Gärtner hochwertig
A	8000	400	200	200

Bieling (7) stellt 50 Paratyphus A-Stämme zusammen, die sämtlich mit Paratyphus A-Immunserum bis zur Titergrenze verkleben. Es folgt das Ergebnis einer Prüfung mit Typhusserum vom Titer 8000, Paratyphus B-Serum vom Titer 10 000 und Gärtnerserum vom Titer 8000:

Para-typhus A-Stämme	Verklebung durch Ty-Serum Titer 8000	Para-typhus A-Stämme	Verklebung durch B-Serum Titer 10 000	Para-typhus A-Stämme	Verklebung durch A-Serum Titer 8000
6 St.	400	4 St.	400	—	—
22 St.	200	12 St.	200	2 St.	200
12 St.	100	20 St.	100	8 St.	100

Annemarie Schmitz und Leopold Kirschner (40) unterwerfen 23 Paratyphus A-Stämme der Agglutination durch homologes Serum vom Titer 40 000, Typhusserum vom Titer 8000, B-Serum vom Titer 20 000 und Gärtner-Serum vom Titer 10 000. Sämtliche Stämme werden von dem Paratyphus A-Serum bis zur Titergrenze 40 000 verklebt. Kein Stamm wird von den heterologen Seris beeinflusst. Paratyphus B-Bacillen, die mit den gleichen Seris geprüft werden, zeigen deutliche Mitagglutination.

Lehmann, Mäulen und Schrickner (30) bringen eine Tabelle, in der sie das agglutinatorische Verhalten von 9 sicheren Paratyphus A-Stämmen gegenüber Paratyphus A-, B- und Typhusserum darstellen. Sämtliche Stämme werden vom homologen Serum bis zur Titergrenze verklebt. Bei mehrfacher Untersuchung zeigen sich geringe Schwankungen. Dies Verhalten fällt auch bei der Mitagglutination durch Typhus und Paratyphus B-Serum auf. Hier verhält es sich im allgemeinen so, daß bei wiederholter Untersuchung die Höhe der Mitverklebung fällt. In nachstehender Tabelle ist immer nur eine Untersuchung und zwar die mit dem höchsten Agglutinationswert wiedergegeben. \pm und ? der Autoren ist durch einen Strich ersetzt.

Paratyphus A- Stämme	Verklebung	
	Sera	
	Ty	B
Stamm 1	—	100
" 2	50	100
" 3	50	100
" 4	—	100
" 5	—	100
" 6	—	100
" 7	—	—
" 8	—	100
" 9	100	50
Labor. I	100	50
" II	100	50

Köhler (47) unterwirft eine Reihe aus einer Paratyphus A-Epidemie gezüchteter Stämme zunächst der Probeagglutination und wertet nachher genauer aus. Die verwandten Sera sind: Paratyphus A-Kaninchenserum vom Titer 4000, Typhus-Eselserum vom Titer 10 000, Paratyphus B-Eselserum vom Titer 5000, Enteritis Gärtner-Eselserum vom Titer 5000.

Die Probeagglutination fällt mit dem Paratyphus A-Serum stets positiv, mit den 3 ungleichnamigen Seris stets negativ aus.

Bei genauerer Auswertung wird für Paratyphus A-Serum als äußerster Grenzwert Verklebung bei einer Serumverdünnung von 1:6400 und 1:12800 gefunden, für die anderen Seren meist bei einer solchen von 1:100 oder 1:200, seltener von 1:50, sehr selten von 1:400 oder gar 1:800 (so einmal mit Gärtner-Serum).

Eigene Versuche.

In einer größeren Reihe von Versuchen habe ich Paratyphus A-Stämme mit einem Typhuskaninchenserum vom Titer 10 000 und einem Paratyphus B-Kaninchenserum vom Titer 2000 agglutiniert. Die Versuche erstrecken sich nicht lediglich auf eine einmalige oder zweimalige Verklebung, sondern prüfen in längeren Reihen aufeinander folgender Ueberimpfungen, ob die Mitagglutination von Paratyphus A-Stämmen durch heterologe Immunsera Schwankungen von gesetz- oder ungesetzmäßigem Charakter unterworfen ist. Bei fast sämtlichen Agglutinationsproben wurde auch das homologe Serum herangezogen. Es sollte auf diese Weise festgestellt werden, ob zwischen etwaigen Schwankungen der Verklebbarkeit mit dem homologen Serum und solchen mit den heterologen Seris eine Gesetzmäßigkeit abgeleitet werden könne. Das Ergebnis zeigen die nachstehenden Tabellen. Von der Norm abweichende Befunde bei einem Stamm werden im Abschnitt C gebracht (Paragglutination bei Paratyphus A).

Tabelle I.

Sera	Stamm 352								
	2. Ue.	3. Ue.	4. Ue.	5. Ue.	6. Ue.	7. Ue.	8. Ue.	9. Ue.	
A	5 000	2000	5000	5 000	2 000	5 000	5 000	5 000	a
Ty	200	200	0	200	100	200	100	100	
B	.	.	.	100	100	100	0	0	
A	10 000	5000	5000	10 000	10 000	10 000	10 000	20 000	b
Ty	200	200	200	200	200	200	200	200	
B	.	.	.	100	100	200	0	0	

Tabelle I (Fortsetzung).

Sera	10. Ue.	11. Ue.	12. Ue.	13. Ue.	15. Ue.	16. Ue.	20. Ue.	
A	5000	5000	5 000	5000	5000	.	.	a
Ty	100	200	100	200	100	100	100	
B	0	200	100	200	0	0	0	
A	5000	5000	10 000	5000	5000	.	.	b
Ty	200	200	200	200	200	100	100	
B	0	200	100	200	0	0	100	

Ue. = Ueberimpfung.

Bei sämtlichen Tabellen bedeutet a die Verklebung bei Ablesung nach 3-stündigem Verweilen der Agglutinationsröhrchen im Brutschrank bei 37°, b die Verklebung bei Ablesung nach weiterem 16-stündigen Stehen bei Zimmertemperatur.

Tabelle II.

Sera	Stamm 386						
	1. Ue.	2. Ue.	3. Ue.	4. Ue.	5. Ue.	6. Ue.	
A	5 000	5 000	5 000	5 000	2 000	5000	a
Ty	200	100	200	100	100	200	
B	200	100	200	0	200	0	
A	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	5000	b
Ty	200	200	500	200	200	200	
B	200	100	200	100	200	100	

Tabelle II (Fortsetzung)

Sera	7. Ue.	8. Ue.	9. Ue.	11. Ue.	15. Ue.	
A	5000	5000	5 000	5000	.	a
Ty	200	100	200	100	0	
B	200	100	500	200	0	
A	5000	5000	10 000	5000	.	b
Ty	200	200	500	200	200	
B	200	100	500	200	0	

Tabelle III.

Sera	Stamm 465					
	1. Ue.	2. Ue.	3. Ue.	4. Ue.	5. Ue.	
A	10 000	5 000	10 000	5000	5000	a
Ty	100	200	200	100	200	
B	100	0	0	0	200	
A	10 000	20 000	20 000	5000	5000	b
Ty	200	1 000	200	200	200	
B	100	0	100	0	200	

Tabelle III (Fortsetzung)

Sera	6. Ue.	7. Ue.	9. Ue.	10. Ue.	14. Ue.	
A	5000	5 000	5000	0	0	a
Ty	200	200	200	0	0	
B	100	200	0	0	0	
A	5000	10 000	5000	100	200	b
Ty	200	500	200	0	0	
B	100	200	0	0	0	

Tabelle IV.

Sera	Stamm 510							
	1. Ue.	2. Ue.	3. Ue.	4. Ue.	5. Ue.	7. Ue.	12. Ue.	
A	5 000	5000	5000	2000	5 000	2000	100	a
Ty	100	100	200	100	200	100	100	
B	.	0	200	100	200	0	100	
A	10 000	5000	5000	2000	10 000	5000	200	b
Ty	200	100	200	100	200	200	100	
B	.	0	200	100	200	0	100	

Tabelle V.

Sera	Stamm 518						
	1. Ue.	2. Ue.	3. Ue.	4. Ue.	6. Ue.	11. Ue.	
A	10 000	5000	5000	5 000	5 000	100	a
Ty	100	200	200	200	100	100	
B	100	100	100	200	0	100	
A	10 000	5000	5000	10 000	10 000	200	b
Ty	200	200	200	500	200	200	
B	100	100	100	200	0	200	

Tabelle VI.

Sera	Stamm Franz				
	1. Ue.	2. Ue.	4. Ue.	10. Ue.	
A	2000	5000	5000	.	a
Ty	200	200	100	0	
B	0	0	0	100	
A	5000	5000	5000	.	b
Ty	200	200	200	200	
B	100	0	0	100	

Tabelle VII.

Sera	Stamm					
	Hochstätter 1. Ue.	Eichhorn 1. Ue.	Scheibenphlug 1. Ue.	A 2 1. Ue.	Reindel 1. Ue.	
A	2000	2000	5000	2000	1000	a
Ty	100	100	200	100	200	
B	0	100	100	0	0	
A	2000	2000	2000	5000	2000	b
Ty	100	200	200	100	100	
B	100	100	100	0	500	

Die Stämme in Tabelle VII gehören zur Stammsammlung der Bakteriologischen Anstalt für Elsaß. Das bei ihrer Prüfung verwandte Paratyphus A-Immunserum stammt aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt und hat den Titer 2000.

Zusammenfassung:

1) Die Paratyphus A-Bacillen werden von hochwertigem Typhus-, Paratyphus B-, Mäusetyphus, Gärtner-, Coli- und Faecalis alcaligenes-Immunserum nur sehr niedrig mitverklebt. In der Regel nicht über eine Verdünnung von 1:100 oder 1:200.

2) Die Mitagglutination der Paratyphus A-Stämme durch Typhus- oder Paratyphus B-Immunserum wird durch fortgesetzte Ueberimpfung der Stämme nicht wesentlich beeinflusst.

3) Die Höhe der Mitagglutination der Paratyphus A-Stämme durch Typhus- und Paratyphus B-Immunserum geht nicht durchaus parallel der Verklebbarkeit durch homologes Serum. Sie kann ihr entsprechen, tut es aber nicht immer.

4) Die Höhe der Verklebbarkeit von Paratyphus A-Bacillen ist in der Regel nach dreistündigem Aufenthalt im Brutschrank

bei 27 Grad erreicht. Es tritt jedoch in einem nicht unerheblichen Prozentsatz der Fälle noch eine verspätete Agglutination ein, sobald die Agglutinationsröhrchen noch längere Zeit (16 Stunden) bei Zimmertemperatur stehen gelassen werden. Die Ablesung erfolgt am besten makroskopisch unter Nachprüfung durch das Agglutinoskop von Kuhn und Woithe.

II. Verklebung von Paratyphus A-Bacillen durch natürlich-heterologes Immunserum (Krankenserum).

Es handelt sich in diesem Abschnitt praktisch um die Frage des Ausschlusses von Paratyphus A-Infektion auf Grund der Gruber-Widalschen Reaktion bei Krankheiten mit verwandtem klinischen Bilde (Typhus und Paratyphus B).

Bei der geringen praktischen Bedeutung, die der Paratyphus A bisher besaß, ist naturgemäß nur selten die Gruber-Widalschen Reaktion auch mit Paratyphus A-Bacillenaufschwemmung angesetzt worden. Reiner Müller aus Kiel schreibt an Lehmann: „Ich selbst habe in Kiel für ganz Schleswig-Holstein jahrelang jede eingesandte Blutprobe auf Agglutination mit Typhus, Paratyphus B und Paratyphus A angesetzt, nur in den letzten Jahren wurde Paratyphus A wegen Arbeitsüberlastung und wegen der Ergebnislosigkeit fortgelassen.“ So wie hier ist es wohl auch auf den anderen bakteriologischen Anstalten gewesen. Eine gewisse Zeit wurde bei typhusähnlichen Krankheitsbildern der Gruber-Widal auch mit Paratyphus A-Bacillenaufschwemmung ausgeführt. Schließlich bewirkte aber die Ergebnislosigkeit das Aufgeben dieser Methode. Trotz alledem liegen über die agglutinatorischen Beziehungen zwischen Paratyphus A-Bacillen und heterologen Krankenseris eine Reihe wissenschaftlicher Untersuchungen vor. Und jetzt im Kriege wird wohl nach dem vermehrten Auftreten von Paratyphus A und seiner größeren praktischen Bedeutung auch wieder allorts in Typhus-Verdachtsfällen der Gruber-Widal auch mit Paratyphus A-Aufschwemmung angesetzt.

Die ersten Versuche, durch die heterologes Krankenserum gegenüber Paratyphus A-Bacillen geprüft wurde, sind von Schottmüller (42) im Jahre 1901 ausgeführt worden. Dieser benutzte 4 Paratyphus B-Patientenseris und ließ sie auf die homologen und auf 2 Paratyphus A-Stämme einwirken.

Stämme	Verklebung			
	Sera			
	B Krenzin	B Köcher	B Thot	B Seemann
B Krenzin	100	10 000	10 000	1 000
B Köcher	1000	10 000	1 000	1 000
B Thot	100	1 000	10 000	1 000
B Seemann	1000	10 000	1 000	10 000
A Müller	0	0	59	100
A Barg	100	0	50	100
	Apyrexie	Apyrexie	Pyrexie	Pyrexie

1903 schildert Korte (25) 2 Paratyphus B-Fälle, von denen der erste klinisch und bakteriologisch einwandfreier Paratyphus B ist, während beim zweiten insofern eine Lücke besteht, als der Bacillennachweis nicht erbracht ist.

Beim ersten Falle stellt der Autor 3mal die Gruber-Widalsche Reaktion an. Beim dritten Male, als der Titer des Hauptagglutinins schon zu sinken beginnt, prüft er auch das Verhalten des Krankenserums gegenüber einem Paratyphus A-Stamm und findet:

Stämme	Verklebung	Stamm	Verklebung	Stamm	Verklebung
B (fremder) Stamm	8000
B (fremder) Stamm	7000
B (fremder) Stamm	7000	Typhus	160	A	20

Fall 2 zeigt:

	Verklebung	Stamm	Verklebung	Stamm	Verklebung
3 B-Stämme	2500	Typhus	0	A	0

Nunmehr untersucht Korte in einer Reihe von Typhusfällen systematisch die agglutinatorischen Fähigkeiten des Krankenserums gegenüber Typhus-, Paratyphus A- und Paratyphus B-Bacillen.

Er kommt zu der Folgerung, daß das Typhuskrankenserum durchaus nicht einheitlich auf die beiden Typen der Paratyphuserreger wirkt.

So konnte er in einer Reihe von Fällen, in denen Typhusbacillen, als die Erreger, teils niedrig (40—80), teils hoch (2500—5000) verklebt wurden, keine wesentliche Beeinflussung von Paratyphus A- oder Paratyphus B-Bacillen feststellen.

In einer anderen Reihe von Fällen wurden nur Paratyphus B-Bacillen mitverklebt.

In einer weiteren Reihe nur Paratyphus A-Bacillen:

Stämme	Verklebung	Stämme	Verklebung	Stämme	Verklebung
Ty	640	B	0	A	80
Ty	640	B	0	A	320
Ty	13 000	B	0	A	320

Hier tritt augenfällig zutage, daß die Vermehrung der Mitagglutinine durchaus nicht proportional der Zunahme des Hauptagglutinins ist.

Weitere Sera wiesen sowohl eine deutliche Mitverklebung von Paratyphus A- als auch von Paratyphus B-Bacillen auf:

	Stämme	Verklebung	Stämme	Verklebung	Stämme	Verklebung
1	Ty	320	B	160	A	160
2	Ty	320	B	160	A	160
3	Ty	320	B	160	A	40—80
4	Ty	320	B	80	A	80—160
5	Ty	1 200	B	160	A	40—80
6	Ty	1 200	B	320	A	320
7 a	Ty	2 500	B	320	A	320
b	Ty	5—10 000	B	320	A	320
8	Ty	5—10 000	B	320	A	80

Die Entnahme der Patientensera erfolgte in verschiedenen Stadien der Krankheit, meist in der Rekonvaleszenz.

1905 führen Grünberg und Rolly (11) eine größere Zahl von Versuchen mit den Seris von 40 klinisch sicheren Typhuskranken aus. Bei 32 war der Bacillennachweis gelungen, bei 8 nicht. An Stelle des umfangreichen Tabellenmaterials gebe ich die Ansicht der Verfasser wieder, die sie sich aus den gewonnenen Ergebnissen gebildet haben:

„Betrachten wir die agglutinatorischen Verhältnisse des Typhusserums zu den Paratyphus-Bacillen, so finden wir eine Mitagglutination dieser Bacillen in 70 Proz. sämtlicher Fälle. Ja wir sehen, daß diese Mitagglutination in 35 Proz. der Fälle bedeutend höher ist, als die Agglutination des Serums gegenüber Bakterium Eberth. Es widersprechen diese Resultate teilweise denen von Zupnik und Posener (Prager med. Wochenschrift, 1903), die beide wohl ebenfalls eine Mitagglutination von Paratyphus-Bacillen durch das Blutserum von Typhuskranken nachweisen konnten, dagegen den Agglutinationswert für *Bacterium typhi* immer am höchsten fanden.“

Die kritische Betrachtung dieser Ausführungen an der Hand der Tabellen ergibt, daß in den Fällen, wo die Autoren für Paratyphus eine höhere Verklebung fanden als für Typhus, neben dem Verklebungsergebnis manches Fragezeichen steht, also wohl eine einwandfreie Agglutination nicht immer vorlag. Zweitens ist zu bedenken, daß immerhin in 8 Fällen der Bacillennachweis nicht glückte. Und wir wissen heute, daß Paratyphus A fast ausschließlich unter dem klinischen Bilde des Typhus abdominalis verläuft.

Die Verfasser fahren fort: „Eigentümlich ist bei dieser Mitagglutination, daß verschiedentlich die beiden Arten des Paratyphus-Bacillus so

differente Agglutinationswerte ergaben. So war gar nicht selten die Agglutination eines Typhusserums auf das eine *Bacterium paratyphi* positiv, auf das andere negativ.

In 30 Proz. unserer Fälle fehlte jede Agglutinationswirkung des Typhusserums sowohl auf Paratyphus A als auch auf Paratyphus B, selbst bei den niedrigsten von uns verwandten Verdünnungen von 1:30.

Die Mitbeeinflussung der Paratyphus-Bacillen durch das Serum Typhöser erfolgte in den verschiedensten Stadien der Krankheit.“

1906 veröffentlichten Brion und Kayser (11) eine umfangreiche Arbeit, die das Ergebnis fast zweijährigen Zusammenarbeitens von Klinik und Bakteriologie auf dem Gebiete des Typhus darstellt. Es handelt sich um eine Untersuchung von 200 Fällen. Von diesen waren 2 Fälle mit dem Bacillus vom Typus A und 7 solche mit dem Bacillus vom Typus B.

Aus der Zusammenfassung ist für die Beurteilung der agglutinatorischen Beziehungen des Bacillus paratyphosus A zu heterologem Krankenserum von Bedeutung:

„Bei Typhus mit Eberth-Gaffkyschen Bacillen tritt außer der Gruber-Widalschen Reaktion für Typhusbacillen noch eine Gruppenagglutination des Bacillus paratyphi A Brion-Kayser in 10 Proz., des *Bacterium paratyphi* B Schottmüller in 8 Proz. der Fälle ein.

Werden mehrere Bacillen der Typhus-Coli-Gruppe vom Patientenserum verklebt, so braucht in etwa 1 Proz. unseres gesamten Materials das zu dieser Zeit aus dem Krankenmaterial gezüchtete Bakterium nicht an jedem Tage am höchsten unter den Gruppenverwandten agglutiniert zu werden.“

Die Erklärung hat man durch die Bindung größerer Mengen von Agglutininen durch Bakterienaussaat ins Blut zu geben versucht, wobei aber der Widerspruch besteht, daß man gelegentlich bei Blutzüchtungen an solchen Tagen kein positives Ergebnis gehabt hat.

Die Autoren sagen weiter: „Die Erkennung des infizierenden Keimes aus der Agglutination allein ist, falls mehrere Bakterien vom Patientenserum beeinflusst werden, unter Umständen dadurch möglich, daß man hohe Serumverdünnungen herstellt und die gewöhnliche makroskopische Betrachtung durch die viel höhere und unzweifelhafte Ausschläge ergebende mikroskopische Prüfung ergänzt. Weitere brauchbare Hilfsmittel sind zu diesem Zwecke die verspätete makroskopische Agglutination und der Castellianische Versuch.

Hohe Agglutinationen können von einem Tage zum anderen auftreten. Es empfiehlt sich daher, die Agglutinationsprobe wöchentlich zu wiederholen.“

1908 prüft Groß (18) 14 Krankensera von Typhuspatienten. In 9 Fällen war der Bacillennachweis positiv, in einem weiteren Falle wurde die klinische Diagnose durch Autopsie als *Ileocöcaltyphus* bestätigt. Hierzu sei bemerkt, daß auch bei Paratyphus A durchaus typhusähnliche Darm-

Veränderungen gefunden worden sind. Das Tabellenmaterial ist zu umfangreich zur Wiedergabe. Ich beschränke mich daher auf die Zusammenfassung und einige Beispiele. Der Verfasser kommt zu dem Ergebnis: „Paratyphus A- und B-Bacillen werden in den meisten Fällen mitverklebt, in einigen nicht oder nur ganz unbedeutend. Die Höhe des Verklebungstiters scheint im allgemeinen abhängig von der Höhe des Titers für Typhus zu sein.“ Daß dies nicht stimmt, ist schon betont worden. Der Verfasser fährt fort: „Doch bestehen zahlreiche Ausnahmen, in denen bei hohem Titer für Typhus Paratyphus A- und B-Bacillen wenig verklebt werden, oder in denen umgekehrt bei niedrigem Titer für Typhus die Paratyphusbacillen verhältnismäßig hoch verklebt werden, sogar höher als manche der angewandten Typhusstämme. Für die Praxis ergibt sich, wie auch schon von anderer Seite hervorgehoben wurde, die Notwendigkeit, bei Versagen der Verklebung gegenüber einem Stamme die Probe stets mit mehreren Stämmen möglichst verschiedener Herkunft anzustellen. Ein positives Ergebnis wird dann in den seltensten Fällen ausbleiben.“

Tabellen-Beispiele:

Tabelle I. Beginn Anfang Juli. Sehr schwerer klinischer Typhus.
Typhusbacillen im Blut.

	Verklebungen				
	10. VIII.	17. VIII.	24. VIII.	31. VIII.	14. IX.
Ty eigener Stamm	200	400	400	200	200
Ty 1	50	200	200	100	100
Ty 2	100	1600	1600	1600	800
Ty 3	200	1600	800	800	400
A	1600	800	800	400	200
B	50	100	50	50	50

Hier fällt die hohe und frühzeitige Verklebung der Paratyphus A-Bacillen auf.

Tabelle II. Beginn am 7. Juli. Leichter klinischer Typhus.
Typhusbacillen im Blut und in den Faeces.

	Verklebungen				
	10. VIII.	17. VIII.	24. VIII.	31. VIII.	14. IX.
Ty eigener Stamm	3200	3200	3200	1600	800
Ty 1	1600	800	400	400	800
Ty 2	1600	1600	800	800	400
Ty 3	1600	1600	800	400	400
A	400	400	100	100	100
B	50	100	100	100	100

In dieser Tabelle besteht ein gewisser Parallelismus zwischen der Kurve des Hauptagglutinins und der der Nebenagglutinine für Paratyphus A.

Tabelle III. Beginn Anfang Juni. Leichter klinischer Typhus.
Keine Bacillen.

	Verklebung			
	4. VIII.	10. VIII.	1. IX.	15. IX.
Ty eigener Stamm	fehlt	fehlt	fehlt	fehlt
Ty 1	800	400	400	400
Ty 2	1600	800	800	800
Ty 3	3200	3200	1600	800
A	25	30	50	50
B	150	100	100	100

In den meisten Tabellen erfolgt die Mitagglutination von Paratyphus A-Bacillen bis zu der Serumverdünnung 1:200, nur selten erreicht sie 1:400.

1913 sagen Uhlenhuth und Hübener (2) in Kolle-Wassermann zu Paratyphus A: „Der Ausfall der Gruber-Widalschen Reaktion ist vorsichtig zu bewerten, da Paratyphus A-Bacillen durch andere Patientensera hoch beeinflußt werden können. So agglutinierte in einigen von Cathoire untersuchten Fällen von febrilem Ikterus das Serum in starker Verdünnung den Paratyphus A-Bacillus. Konrich fand bei einer Paratyphus B-Epidemie im Anfang eine so starke Beeinflussung des Paratyphus A-Bacillus durch Patientensera, daß zunächst an die Aetiologie dieser Bacillen gedacht wurde.“

Eigene Versuche.

Ich habe bei 4 Typhus- und bei 5 Paratyphus B-Rekonvaleszenten den Gruber-Widal mit Paratyphus A- und B- und mit Typhusbacillen angesetzt. Leider war es mir nicht möglich, die Reaktion in verschiedenen Stadien der Krankheit vorzunehmen. Das Ergebnis ist:

Tabelle I.
Gruber-Widal mit Typhus-Rekonvaleszentenserum vom 11. I. 17.

	Paratyphus A	Paratyphus B	Typhus	Krankheitsbeginn	ieberfrei seit:
1	(100)	0	(100)	27. X. 16	15. XI. 16
2	(100)	100	3000	Anfang XI. 16	26. XII. 16
3	(100)	500	3000	20. XII. 16	3. I. 17
4	100	800	1000	20. XI. 16	23. XII. 16

Tabelle II.
Gruber-Widal mit Paratyphus B-Rekonvaleszentenserum vom 11. I. 17.

	Paratyphus A	Paratyphus B	Typhus	Krankheitsbeginn	ieberfrei seit:
1	200	100	200	Mitte XII. 16	31. XII. 16
2	1000	3000	800	„ XI. 16	23. XII. 16
3	800	2000	200	Ende XII. 16	noch Pyrexie
4	100	200	200	1. I. 17	6. I. 17.
5	200	300	200	Anfang XI. 16	12. XII.; seit 19. XII. 16 sept. Fieber

Die Ablesung erfolgte in sämtlichen Fällen nach 3-stündigem Aufenthalt der angesetzten Proben im Brutschrank bei 37° und nach weiterem 16-stündigen Stehen bei Zimmertemperatur. Wiedergegeben ist nur die letzte Ablesung. Es handelt sich um typische klinische, durch Bacillennachweis erhärtete Fälle. Im Fall 1 der Tabelle II wurden neben Paratyphus B- noch Y-Ruhrbacillen gefunden.

Tabelle I zeigt durchweg geringe Mitverklebung von Paratyphus A-Bacillen durch Typhusrekoneszentenserum. Im Fall 1 sind die Typhusagglutinine bereits wieder aus dem Blutkreislauf verschwunden. Bei Fall 4 fällt die im Verhältnis zur Titergrenze des Serums für Typhusbacillen sehr hohe Mitverklebung der Paratyphus B-Bacillen auf. Leider konnte der Gruber-Widal nicht in verschiedenen Krankheitsstadien ausgeführt werden.

Tabelle II bringt in den Fällen 2 und 3 im Gegensatz zur Literatur hohe Mitverklebung von Paratyphus A-Bacillen. Auch hier ist für die Beurteilung die Unmöglichkeit, den Gruber-Widal in verschiedenen Krankheitsstadien anzustellen, sehr störend. Es handelt sich wohl um Antikörper mit besonders umfangreichem Rezeptorenapparat, also um eine außergewöhnlich hohe einfache Mitverklebung. Unwahrscheinlich ist Mischinfektion oder vermehrte Neubildung im Blute noch kreisender Paratyphus A-Antikörper nach beliebiger Neuinfektion. Im Fall 1 sind entweder die Paratyphus B-Antikörper schon wieder aus dem Blute verschwunden, oder es ist aus individuellen Gründen nicht zu einer stärkeren Bildung solcher gekommen.

Bezüglich der Typhusagglutinine sowohl in Tabelle I als auch in Tabelle II sei darauf hingewiesen, daß sämtliche Leute gegen Typhus geimpft waren. Im Fall 2 von Tabelle II könnte diese Tatsache zur Erklärung des reichen Gehaltes des Blutserums an Typhusagglutininen dienen, wenn man nicht bei der hohen Mitverklebung, die auch Paratyphus A-Bacillen erfuhren, eine individuelle, auf einem besonderen Umfange des Rezeptorenapparates der spezifischen Agglutinine beruhende Eigenheit annehmen will.

Zusammenfassung:

Während die Verklebung von Paratyphus A-Bacillen durch heterologe künstliche Immunsera eine einwandfreie, praktisch

einfache und mit Erfolg verwertbare Reaktion darstellt, liegen die Verhältnisse durchaus nicht so klar, sobald man auf Grund des Gruber-Widal, also bei Verwendung von Krankenserum, eine Paratyphus A-Infektion ausschließen will. Es finden sich doch recht beachtenswerte Angaben, daß Sera von Typhus-, Paratyphus B- und febrilem Ikterus-Kranken Paratyphus A-Bacillen hoch, ja sogar höher als die eigentlichen Erreger verkleben können. Andererseits überwiegen aber die Mitteilungen, daß die Paratyphus A-Bacillen von heterologen Krankenseris nicht so stark und, sobald es sich um hochwertige Krankenserum handelt, bei weitem nicht so stark verklebt werden, als daß sie als die Erreger angesehen werden könnten. Um in Zweifelsfällen, falls nicht der einwandfreie Erregernachweis Aufklärung bringt, allein auf Grund der Gruber-Widal'schen Reaktion zum Ziele zu kommen, sind verschiedene Vorschläge gemacht worden. Doch ist die praktische Lösung der Frage in einwandfreier Weise noch nicht erfolgt.

C. Die agglutinatorischen Beziehungen zwischen Paratyphus A-Immunserum und heterologen Stämmen.

I. Verklebung von heterologen Stämmen durch künstliches Paratyphus A-Immunserum.

Brion und Kayser (10) stellen 1902 mit einem Paratyphus A-Stamm ein Kaninchenserum vom Titer 1000 her. Der eigene Stamm und ein anderer Paratyphus A-Stamm (Müller von Schottmüller) werden bis zur Titergrenze verklebt. Dagegen zeigen 4 Laboratoriumstyphusstämmen bei einer Verdünnung von 1:33 und ein Paratyphus B-Stamm bei einer solchen von 1:50 keine Beeinflussung.

Im selben Jahre agglutiniert Hoffmann (19) mit einem Kaninchen-Paratyphus A-Immunserum Paratyphus A-Bacillen bis zu einer Verdünnung von 1:1800, während Typhus-, Paratyphus B- und Colibacillen bei einer Verdünnung von 1:50 nicht beeinflußt werden.

1904 prüft Blumenthal (8) mit einem Paratyphus A-Immunserum von Titer 7500 einen Paratyphus A-Stamm, der aus der Gallenblase einer Frau isoliert wurde und findet makroskopische Verklebung bis zur Titergrenze. Ein Typhus- und ein Paratyphus B-Stamm zeigten bei einer Verdünnung von 1000 keine Verklebung. Geringere Verdünnungen wurden anscheinend nicht untersucht.

Porcile (36) verwendet 1905 ein Paratyphus A-Immunserum, das er von einem Kaninchen mittels eines Paratyphus A-Stammes von Schottmüller gewonnen hatte. Das Serum verklebt den eigenen Paratyphus A-Stamm bis zu der Verdünnung 1:1000, einen anderen (Straßburg) bis

1:200. Gleichzeitig untersucht Porcile noch ein anderes Kaninchen-Paratyphus A-Serum, das er mit einem Paratyphus A-Stamm aus Straßburg erzeugt hat und dessen spezifischer Titer noch niedriger ist. Obgleich ja auch das erste Serum keinen hohen Titer hat, so ist doch eine Gegenüberstellung der beiden Sera so sprechend für die Verwendung von Immunseris mit hohem Titer, daß ich es nicht unterlassen möchte, die Ergebnisse, die mit den beiden Seris erzielt wurden, vergleichend nebeneinander zu reihen:

Stämme	Verklebung	
	Sera	
	Schottmüller A	Straßburg A
Schottmüller A	1000	100
Straßburg A	200	200
Schottmüller B	50	100
Straßburg B	50	100
Saarbrücken B	50	200
4 Stämme Typhus		
3 Stämme	100	2 St. 100
1 Stamm	50	1 St. 200
1 Stamm Gärtner	0	1 St. Coli 200
1 Stamm Coli	100	0

1906 bringen Kutscher und Meinicke (26) eine größere Anzahl von Versuchen. Sie prüfen 10 Paratyphus B-Stämme mit einem Paratyphus A-Immunserum vom Titer 2000. Es tritt bei einer Verdünnung von 1:100 eine undeutliche Verklebung von 3 Stämmen, bei einer solchen von 1:50 ebenfalls und außerdem eine deutliche von 7 Stämmen ein.

Durch ein anderes Paratyphus A-Serum wurde von 4 Mäusetypus-Stämmen ein Stamm bei der Verdünnung von 1:100 und einer bei 1:50 einwandfrei agglutiniert. Die beiden anderen Stämme zeigten bei einer Verdünnung von 1:50 geringe Beeinflussung. Das verwandte Serum hatte einen Titer von 5000.

Im selben Jahre untersuchte Bock (9) mit einem Paratyphus A-Immunserum vom Kaninchen, das mit dem Stamm Brion-Kayser gewonnen wurde, 2 Paratyphus A-Stämme (Brion-Kayser und Hewlet), 3 Paratyphus B-Stämme (Seemann, Saarbrücken, Achard) und einen Para-Colon-Stamm (Eusten Allen). Die beiden Paratyphus A-Stämme werden bis zu den Verdünnungen 1:200 und 1:3000 verklebt. Die 3 Paratyphus B-Stämme werden bei einer Verdünnung von 1:100 nicht beeinflusst. Der Para-Colon-Stamm wird bis 1:3000 agglutiniert. Leider konnte ich über ihn nichts Näheres erfahren.

1908 erzielt Groß (16) mit dem Serum eines gegen Paratyphus A immunisierten Meerschweinchens, das den eigenen Stamm bis zu der Verdünnung 1:800 verklebt, für 3 Typhus- und einen B-Stamm als Ergebnis: Typhus 1 = 1:25; Typhus 2 = 1:50; Typhus 3 = 0; Paratyphus B = 1:200.

1909 beschreiben Baermann und Eckersdorff (13) eine Reihe von Paratyphus A-Fällen. Die Stämme werden von einem Paratyphus A-Immunserum vom Titer 2000 teils über die Titergrenze verklebt, teils bis an diese, teils auch unterhalb derselben. Ein Typhusstamm und ein Paratyphus B-Stamm werden bei einer Verdünnung von 1:100 nicht einwandfrei agglutiniert.

1910 bringt Purjesz (37) 2 Paratyphus A-Kaninchensera mit 2 Paratyphus A-, einem Typhus- und einem Paratyphus B-Stamm zusammen. Da die beiden Paratyphus A-Sera sehr niedrige Titer haben, geben die Versuche kein schönes Ergebnis. Eine stärkere Verklebung der Paratyphus A-Bacillen als der Typhus- und der Paratyphus B-Bacillen ist zu erkennen.

1911 stellt Springer (43) mit einem Paratyphus A-Immunserum vom Titer 50 000 eine Einwirkung auf Typhusbacillen bis zu einer Verdünnung von 1:6400 fest, auf Paratyphus B-Bacillen bis 1:3200, auf Gärtner-Bacillen bis 1:25 600, auf Mäusetyphusbacillen bis 1:800, auf Schweinepestbacillen bis 1:400 und auf Colibakterien bei 1:100 keine. Es fällt hier die hohe Mitagglutination besonders der Gärtner-Bacillen auf.

1916 überlassen Annemarie Schmitz und Leopold Kirschner (40) 2 Paratyphus B-Stämme der Einwirkung eines Paratyphus A-Serums vom Titer 40 000. Der eine Stamm wird bis zu der Verdünnung 1:500, der andere 1:1000 verklebt.

Eigene Versuche.

Meine eigenen Versuche habe ich mit Paratyphus A-Immunserum vom Kaninchen mit dem Titer 5000 und 2000 angestellt.

Tabelle I. Paratyphus A-Immunserum vom Titer 5000.

Stämme Ty	Verklebung	
	nach 3 Std. bei 37°	nach weiterem 16-stündigen Stehen bei Zimmertemperatur
Jacques M. Ty	0	500
Grimm M. Ty	0	500
Heym A. Ty	500	1000
Pfrimmer K. Ty	200	500
Schuh E. Ty	0	500

Tabelle II. Paratyphus A-Immunserum vom Titer 5000.

Stämme B	Verklebung	
	nach 3 Std. bei 37°	nach weiterem 16-stündigen Stehen bei Zimmertemperatur
Crummenauer O. B	0	200
Mania P. B	200	500
Bokeloh W. B	200	500
Laborat. B	200	500
577 U B	200	500

Tabelle III. Paratyphus A-Immunserum vom Titer 2000.

Stämme Ty	Verklebung	
	nach 3 Std. bei 37°	nach weiterem 16-stündigen Stehen bei Zimmertemperatur
Jacques M. Ty	200	200
Grimm M. Ty	100	200
Heym A. Ty	200	500
Pfrimmer K. Ty	200	500
Schuh E Ty	100	200
Wellenstadt Ty	200	500
Schares Ty	200	200
Schülz	200	500
Russe Ty	100	500
Labor. Ty	100	500

Tabelle IV. Paratyphus A-Immunserum vom Titer 2000.

Stämme B	Verklebung	
	nach 3 Std. bei 37°	nach weiterem 16-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur
Crummenauer O. B	100	100
Lederle J. B	100	100
Mania P. B	100	100
Labor. B	200	200
Bokeloh W. B	100	500
Wolf M. B	100	100
Wegener E. B	100	500
Heim B	100	500
289 B	100	100
983 B	100	100

Es handelt sich in vorstehenden Tabellen um einwandfreie Typhus- und Paratyphus B-Stämme, die von hochwertigem Typhus- und Paratyphus B-Immunserum bis zur Titergrenze verklebt wurden. Die 3 Typhusstämme in Tabelle I, die nach 3-stündigem Aufenthalt im Brutschrank bei 37° keine Mitagglutination für Paratyphus A zeigen, waren schwer verklebliche Typhusstämme, die auch durch homologes Immunserum um diese Zeit erst schwach beeinflusst waren. Die Typhusstämme, welche gesperrt gedruckt sind, stammen von Bacillenträgern.

In einem gewissen Gegensatze zu den Berichten in der Literatur tritt aus meinen Versuchen eine ganz beträchtliche Fähigkeit des Paratyphus A-Immunserums hervor, heterologe Stämme mitzuverkleben. Diese Eigenschaft macht sich besonders deutlich bemerkbar, wenn die angesetzten Proben lange gestanden haben. Da nun bei schwer agglutinablen Typhusstämmen eine lange Wartezeit nötig ist, bis die Stämme

vom homologen Immunserum bis zur Titergrenze verklebt sind, so kann dann auch besonders leicht eine hohe Mitagglutination von Paratyphus A-Bacillen eingetreten sein. Daher ist in solchen Fällen die Erscheinung wohl zu beachten. Bei Verwendung hochwertigen Typhusimmunserums aber, von mir wurde ein solches vom Titer 20000 benutzt, wird die Eindeutigkeit des Ergebnisses nicht beeinträchtigt.

Zusammenfassung:

Heterologe Stämme werden von künstlichem Paratyphus A-Immunserum meist nur sehr niedrig mitverklebt. Doch kann in manchen Fällen die Mitverklebung auch eine recht hohe sein.

II. Verklebung heterologer Stämme durch natürliches (Kranken-)Paratyphus A-Immunserum.

Ins Praktische übersetzt, heißt das: inwieweit ermöglicht der Gruber-Widal bei Paratyphus A-Infektion die einwandfreie Diagnose? Die Verwertbarkeit der Ergebnisse wird wieder durch dieselben Schwierigkeiten beeinträchtigt, die sich bei der Untersuchung der agglutinatorischen Beziehungen zwischen Paratyphus A-Stämmen und heterologem natürlichen Immunserum als unüberbrückbar erwiesen haben. Das ist die Notwendigkeit, die Krankenseris so zu nehmen, wie sie sind, d. h. mit all den Schwankungen, die ihr Agglutiningehalt im kranken Körper durchmacht. In neuerer Zeit kommt bei Militärfällen noch erschwerend für die Diagnosestellung der Umstand in Betracht, daß in den Patientenseris künstlich erzeugte Immunkörper für Typhus kreisen.

An und für sich wäre es ja die einfachste Methode, aus dem Blute des Patienten ohne weiteres die Krankheit abzulesen. Deshalb hat sich auch die Tätigkeit der Forscher dieser Seite der bakteriologischen Diagnostik bei Paratyphus A mit besonderer Aufmerksamkeit zugewendet, und es besteht eine verhältnismäßig umfangreiche Literatur darüber.

Schottmüller (42) prüft 1901 das Serum eines Paratyphus A-Kranken (Müller) gegenüber 2 Paratyphus A- und 4 Paratyphus B-Stämmen. Er erhält bei allen eine Verklebung bis zur Serumverdünnung 1:100. Der Gruber-Widal wurde am 43. Krankheitstage in der Apyrexie ausgeführt. Das Hauptagglutinin war wohl schon wieder größtenteils aus dem Kreislauf verschwunden.

Brion und Kayser (10) finden 1902 bei einem Paratyphus A-Patienten eine Agglutinationskraft des Serums vom 1:1000 für Paratyphus A-Bacillen.

Blumenthal (8) führt 1904 den Gruber-Widal bei einer Frau aus, die wegen Gallensteinkoliken operiert wurde, und bei der sich in den Konkrementen Paratyphus A-Bacillen fanden. Die Reaktion war für Paratyphus A bei einer Verdünnung von 1:200 makroskopisch und 1:300 mikroskopisch positiv, für Typhus und Paratyphus B bei 1:100 negativ.

Nicolle und Cathoire berichten 1906 (referiert nach Schöne) über 16 klinische Typhusfälle bei einer Epidemie der tunesischen Besatzung, die durch den Paratyphus A-Bacillus verursacht wurde. Die Schlüsse werden zum größten Teil aus den Ergebnissen der Agglutination gezogen. Die Höhe des Agglutinationstiters ist im allgemeinen sehr gering, nur in einem Falle beträgt sie 2000, dagegen fallen die Proben mit Typhus- und Paratyphus B-Bacillen entweder negativ oder sehr schwach aus. Es wird von den Autoren besonders darauf aufmerksam gemacht, daß in Anbetracht des rapiden Abfalls des Agglutinationstiters in der Apyrexie eine retrospektive Diagnose des Paratyphus A nicht möglich sei.

1907 beschreiben Levy und Gäthgens (31) einen Paratyphus A-Fall, zu dem noch ein Typhus hinzutritt.

Der Paratyphus A lief in 12 Tagen ab. Am 10. Tage war der Gruber-Widal für Typhus positiv bei der Serumverdünnung 1:100, für Paratyphus A bei einer solchen von 1:500.

Nach einer fieberfreien Periode trat plötzlich erneut Temperatur auf, und es entwickelte sich ein schwerer Status typhosus.

Der Gruber-Widal war:

- am 21. Tage: Typhus 1:100, A 1:100
- am 41. Tage: Ty 1:100, A 1:50, B 1:100
- am 60. Tage: Ty 1:1000, A 1:100, B 1:500.

An diesem Tage wurden aus dem Stuhl Typhusbacillen gezüchtet.

Es fällt auf, daß die Agglutinine für Paratyphus A, nachdem sie bis 1:50 abgenommen hatten, nach dem vermehrten Auftreten von Typhusagglutininen wieder auf 1:100 steigen.

1906 veröffentlichen Baermann und Eckersdorff (13) 8 Fälle von Paratyphus A, darunter 6 mit positivem Bacillenbefunde. In einem Falle wurden zunächst nur Typhus-, später Typhus- und Paratyphus A-Bacillen gewonnen. Die näheren Daten sind folgende:

- am 3. Tage Gruber-Widal: Ty: 1:320, Paratyphus A: 0, Typhusbacillen im Blut
- „ 7. „ Gruber-Widal: Ty: 1:320, Paratyphus A: 0
- „ 17. „ Gruber-Widal: Ty: 1:320, Paratyphus A: 1:320
- „ 21. „ Typhus- und Paratyphus A-Bacillen im Stuhl
- „ 57. „ Gruber-Widal: Ty: 1:160, Paratyphus A: 1:40
- „ 85. „ Gruber-Widal: Ty: 1:160, Paratyphus A: 0.

Hier kommt die Paratyphus A-Infektion zweifellos zu einem vorhandenen Typhus. Es ist auffällig, daß die Agglutinine für Paratyphus A, die sich später bilden als die Typhusagglutinine, schneller aus dem Blute verschwinden als diese.

Nach den Verfassern stieg der Titer des Serums in den übrigen Fällen rasch, erreichte aber keine große Höhe (im allgemeinen 1:160 bis 1:320, nur in einem Falle 1:700). Soweit verfolgt werden konnte, verschwanden die Agglutinine rasch und vollständig aus dem Blute. Diese Beobachtung stimmt mit der von Nicolle und Cathoire gemachten vollständig überein.

Der Gruber-Widal wurde stets mit Typhus-, Paratyphus A- und Paratyphus B-Bacillen angesetzt. Da die Verfasser für Typhus und Paratyphus B keine Werte angeben, ist wohl mit Recht anzunehmen, daß keine Mitverklebung erfolgte.

1910 setzt Purjesz (37) in einem Falle von Paratyphus A zunächst den Gruber-Widal für Typhus mit negativem Erfolge an. Einige Tage später wiederholt er ihn für Typhus und Paratyphus B mit dem gleichen Ergebnis, während er für Paratyphus A eine positive Agglutination bei der Verdünnung 1:80 sofort und 1:1280 überhaupt erhält.

1911 schildert Rolly (39) neben einer Reihe von Paratyphus B-Fällen auch 2 Paratyphus A-Fälle.

Im ersten Falle ist der Gruber-Widal am 17. Tage für Typhus positiv bei einer Serumverdünnung von 1:80, am 18. Tage für Paratyphus A bei einer solchen von 1:150. Am 21. Tage werden Paratyphus A-Bacillen im Stuhl gefunden. Einige Tage später ist der Gruber-Widal für Paratyphus A positiv bei einer Verdünnung von 1:300.

Beim zweiten Falle werden am 11. Tage Paratyphus A-Bacillen aus dem Blute gezüchtet. Der Gruber-Widal ist am 29. Tage, der bereits in der Apyrexie liegt, für Paratyphus A positiv bei der Verdünnung 1:1000, für Typhus und Paratyphus B 1:10, für den frisch aus dem Blute gezüchteten eigenen Stamm 1:100. Diese Erscheinung erinnert an die schwere Verklebbarkheit frisch aus dem kranken Körper oder der Leiche gezüchteter Typhusbacillen.

In einem Bericht Springers (43) aus dem gleichen Jahre handelt es sich um einen Hydrops vesicae felleae infolge Choledochuscarcinoma. Aus dem Gallenblasenschleim werden Paratyphus A-Bacillen gezüchtet. Das Krankenserum zeigt keine Mitagglutination für Paratyphus B-, Mäusetyphus- und Colibacillen; für Gärtner-Bacillen bis zu einer Verdünnung von 1:400, für Schweinepest von 1:200, für Typhus von 1:100. Der eigene Stamm wird bis 1:800 verklebt.

Uhlenhuth und Hübener (2) referieren 1913 im Kolle-Wassermann, Bd. 3, über Untersuchungen von Netter und Ribadeau-Dumas.

Diese haben in Paris in 37 Krankheitsfällen, die klinisch dem Abdominaltyphus glichen, das Krankenserum auf seine agglutinierende Wirkung gegenüber Typhus-, Paratyphus A- und B-, Gärtner- und Psittakosebacillen geprüft. Sehr oft agglutinierte ein Serum mehrere Stämme auf einmal. Aber durch genügend starke Verdünnungen ließ sich jedesmal ein am stärksten beeinflusstes Bakterium von den anderen unterscheiden. Es wurde von den Verfassern als der Erreger der Krankheit angesehen. Danach hätte in den 37 Fällen 22mal Paratyphus A-, 1mal Paratyphus B-, 6mal Gärtner-Bacillen die Ursache abgeben. Leider sind keine Züchtungsversuche angestellt worden. Es können an die Ergebnisse daher auch keine einwandfreien Schlüsse geknüpft werden. In einer anderen Reihe von Krankheitsfällen agglutinierte das Serum 10mal am stärksten den Paratyphus A-Bacillus, 4mal den Gärtner-Bacillus.

Uhlenhuth und Hübener berichten dann weiter: Im Blute treten spezifische Agglutinine nur in bescheidenem Maße auf (1/500). Nur ausnahmsweise sind höhere Werte gefunden worden. Gruppenagglutinine für Typhus und Paratyphus B sind häufig und können den Titer der spezifischen Agglutinine übertreffen. So fand Proescher, daß der größte Teil der Patientensera den Typhusbacillus stärker als den Paratyphus A-Bacillus agglutinierte.

Aus dem Jahre 1916 stammt eine größere Reihe von Berichten. Loewenthal (33 u. 34) schreibt über einen Paratyphus A-Patienten, der zuletzt im April 1915 gegen Typhus und Cholera geimpft worden war. Die Bacillen wurden im Blute nachgewiesen. Der Gruber-Widal war am 4. I. 16 positiv für Typhus bei der Verdünnung 1:200; am 21. I. 16 für Typhus 1:100, Paratyphus B 0, Paratyphus A mit dem eigenen Stamm 1:200 und mit einem fremden Stamm 1:300.

Bei anderer Gelegenheit beschreibt der Autor 2 weitere Fälle von Paratyphus A. Im ersten Falle ist der Gruber-Widal zunächst positiv für Typhus bei der Verdünnung 1:100, Paratyphus B 1:100, Paratyphus A 1:300 (gegenüber einem fremden Stamm); eine Woche später für Typhus und Paratyphus B bei der Verdünnung 1:100, für Paratyphus A 1:300 (gegenüber dem eigenen und einem fremden Stamm).

Im zweiten Falle ist der Gruber-Widal für Typhus, Paratyphus B und Paratyphus A positiv bei einer Serumverdünnung von 1:100. Der Mann war mehrmals gegen Typhus geimpft. Ueber das Stadium der Krankheit, in dem der Gruber-Widal angestellt wurde, ist nichts gesagt.

Oesterlein (35) veröffentlicht 13 Fälle von Paratyphus A. 10mal wurden Paratyphus A-Bacillen allein, 2mal mit Typhus- und 1mal mit Paratyphus B-Bacillen zusammen gefunden. Von den beiden Fällen, wo zugleich Typhusbacillen gezüchtet wurden, verlief der eine sehr leicht und der andere sehr schwer. Im ersten Falle war der Gruber-Widal für Typhus positiv bei einer Serumverdünnung von 1:500, für Paratyphus A negativ. Der Mann war gegen Typhus geimpft. Aus dem Blute wurden Paratyphus A-, aus dem Harn Typhusbacillen erhalten. Im zweiten Falle war der Gruber-Widal für Typhus positiv bei einer Verdünnung von 1:1000,

für Paratyphus A negativ. Der Mann war nicht gegen Typhus geimpft. Aus der Blutkultur wurden zunächst nur Typhus-, später Paratyphus A-Bacillen gewonnen. Im Harn fanden sich nur Typhusbacillen. Nähere Daten für den Gruber-Widal fehlen.

Der mit Befund von Paratyphus B-Bacillen verknüpfte Fall war klinisch sehr ernst. Die Paratyphus A-Bacillen wurden aus Parotitiseiter, die Paratyphus B-Bacillen aus einem Nabelabszeß erhalten. Der Gruber-Widal für Paratyphus A war negativ.

Unter den 10 übrigen Fällen wurde der Gruber-Widal 2mal nicht angestellt, 3mal war er für Paratyphus A positiv, 5mal negativ. Ob die Bacillen aus dem Blut oder aus dem Stuhl gezüchtet wurden, war für den Ausfall der Gruber-Widalschen Reaktion gleichgültig. Bei den 3 Fällen mit positivem Gruber-Widal wurden die Bacillen 2mal im Blute vermißt, während sie dort in 4 von den 5 negativen Fällen gefunden wurden und im 5. Falle keine Blutkultur angelegt worden war.

Frenzel (15) berichtet über einen Nephroparatyphus A, der unter dem Bilde der Septikämie zum Exitus kommt. Der Mann war zweimal gegen Typhus geimpft. Der Gruber-Widal war für Paratyphus A (eigener Stamm) positiv noch in der Verdünnung 1:460, Typhus 1:50, Paratyphus B negativ.

Lehmann, Mäulen und Schrickner (30) haben in ihren Fällen keinen Gruber-Widal angestellt: 1) weil die Leute 1—3mal gegen Typhus geimpft waren, 2) aus Zeitmangel.

Svestka (45) hat in 3 Monaten 13 Fälle von Paratyphus A beobachtet. In 7 Fällen handelte es sich um Kranke, in 6 um Rekonvaleszenten. Er gibt keine Einzelheiten, sondern äußert sich nur im allgemeinen über die Gruber-Widalsche Reaktion: „Auch bei unseren Patienten war der Umstand auffallend, daß, ob nun gegen Typhus geimpft oder nicht, die Gruber-Widalsche Reaktion, was Typhus betrifft, sehr hoch war, dagegen eine Agglutination für Paratyphus A mit Serum unserer Patienten und Paratyphus A-Ausscheider total negativ oder sehr niedrig war, obwohl die Betreffenden Bacillen im Blut, Stuhl und Urin hatten.“

Kaliebe (20) prüft in 53 Fällen, bei denen Paratyphus A-Bacillen nachgewiesen worden waren, die Eigenschaften des Patientenserums gegenüber Paratyphus A- und B- und gegenüber Typhusbacillen. Er erhält für Paratyphus A 16mal eine positive Verklebung bis zu einer Serumverdünnung von 1:100. Darunter sind 14 Fälle mit positivem und 2 mit negativem Blut- oder positivem Stuhlbefund. 7 Fälle zeigten gleichzeitig Verklebung von Typhusbacillen bis zu einer Verdünnung von 1:100 und 1 Fall auch noch eine Verklebung von Paratyphus B-Bacillen.

In 7 Fällen war der Gruber-Widal nur für Typhus bis 1:100 positiv, für Paratyphus A dagegen negativ.

Sämtliche Leute waren 3- und mehrmal gegen Typhus geimpft. Sofort an die Schutzimpfung hatte sich die Krankheit niemals angeschlossen.

Annemarie Schmitz und Leopold Kirschner (40) fanden in 9 Fällen, wo aus dem Blute Paratyphus A-Bacillen gezüchtet wurden,

der Gruber-Widal aber nicht für Paratyphus A angesetzt worden war, 2mal eine Verklebung von Typhusbacillen bis zu einer Verdünnung von 1:100, 3mal von 1:50 und 4mal gar keine Beeinflussung. Paratyphus B-Bacillen wurden 1mal bis 1:50 und 8mal nicht verklebt.

In weiteren 8 Fällen, bei denen 6mal Paratyphus A-Bacillen aus dem Blute erhalten wurden, ergab sich folgendes Bild:

Datum	Name	Verklebung		
		Stämme		
		Typhus	Paratyphus B	Paratyphus A
29. X.	P. K.	50	0	12 800
30. X.	K. S.	0	0	800
2. XI.	P. J.	200	0	12 800
4. XI.	M. S.	0	0	400
6. XI.	M. M.	0	0	800
6. XI.	I. H.	100	0	200
6. XI.	F. K.	200	100	1 600
11. XI.	I. F.	100	0	200

Das Vorhandensein von Typhusagglutininen erklären sich die Verfasser aus der wiederholten Typhusschutzimpfung. Als auffallend heben sie den hohen Titer für Paratyphus A hervor.

Klose (23) wertet in 11 Paratyphus A-Fällen, in denen im Blut Paratyphus A-Bacillen nachgewiesen worden waren, das Serum der Kranken gegen Typhus-, Paratyphus B- und Paratyphus A-Bacillen aus und zwar gegen einen Laboratoriums- und teilweise auch gegen den eigenen Stamm. Das Ergebnis zeigt nachstehende Tabelle:

Name	Typhus- Impfung	Verklebung			
		Stämme			
		Typhus	Paratyph. B	Paratyph. A (Labor.)	Par. A (eigen. Stamm)
Ch., Franzose	3mal	500	200	1 000	500
Pr., "	2 "	100	50	500	500
L., "	4 "	1000	50	10 000	5000
C.	3 "	2000	100	200	200
M.	5 "	500	0	500	500
W.	3 "	100	50	1 000	nicht aus- geführt dgl.
C.	3 "	50	0	500	"
L.	3 "	500	0	100	"
K.	5 "	500	0	200	"
M.	5 "	500	0	500	"
S.	unbekannt	500	0	200	"

Damit die Angaben über die Gruber-Widalsche Reaktion bei Paratyphus A, die sich in der Literatur finden, er-

schöpfend verwertet werden können, wäre es erforderlich, daß die Autoren nicht allein den Tag der Blutentnahme angeben, sondern auch, welchem Krankheitstage dieser entspricht, in welchem Krankheitsstadium sich der Kranke an jenem Tage befand, ob er gegen Typhus geimpft war, wie oft und wann das letzte Mal. Die Agglutinine für Paratyphus A bilden sich rasch, nach manchen Autoren in beträchtlicher, nach anderen in unbedeutender Menge. Sie verschwinden auch rasch. Sie stehen in diesem Verhalten in einem gewissen Gegensatze zu der Agglutininbildung bei Typhus abdominalis. Wird also nur angeführt, welches Ergebnis der Gruber-Widal gezeitigt hat, so wird dadurch die Kontrolle ausgeschaltet, die in der Ueberlegung besteht, muß ich nach dem Krankheitsstadium annehmen, daß die Agglutinine für Paratyphus A erst im Begriffe sind, sich zu bilden, daß sie auf der Höhe stehen oder daß sie schon wieder im Verschwinden sind. Diese Ueberlegung ist aber für die Differentialdiagnose von Bedeutung. Habe ich es ferner mit Personen zu tun, die gegen Typhus geimpft sind, oder mit Leuten, die vor noch nicht allzu langer Zeit einen Typhus durchgemacht haben, so muß ich bedenken, daß nach Conradi Agglutinine, die noch im Blute kreisen, durch andersartige Infektion plötzlich wieder vermehrt werden können, im allgemeinen aber auch schnell wieder verschwinden. Die Kenntnis dieser Tatsache in Verbindung mit der Kenntnis der genauen klinischen Daten zur Zeit der Blutentnahme dürften, zumal wenn die Fälle weiter klinisch und bakteriologisch beobachtet werden können, allmählich etwas Licht in das Dunkel bringen, das noch über manchen agglutinatorischen Erscheinungen liegt. Vergessen werden darf dabei natürlich nicht, daß nicht jeder Körper imstande ist, auf den Reiz einer Infektion in demselben Maße mit Agglutininbildung zu antworten. Individuelle Besonderheiten werden immer Ausnahmen bedingen, aber Aufgabe der wissenschaftlichen Arbeit ist es eben, Ausnahmen auf ein Minimum zu beschränken.

Betrachtet man die Klosesche Tabelle im Sinne der vorstehenden Ausführung, so ist man sofort geneigt, die auffällig hohe Mitagglutination der Typhusbacillen im Gegensatze zu den Paratyphus B-Bacillen auf Grund der Conradischen Theorie zu erklären. Für die Schwankungen der Aggluti-

nationswerte für Paratyphus A-Bacillen dürfte vor allem heranzuziehen seien, die verschiedene Zeit der Blutentnahme und der individuelle Unterschied in der Fähigkeit, Agglutinine zu bilden, für die natürlich beide Komponenten, der die Krankheit hervorrufende Infektionskeim und der die Agglutinine bildende Mensch, verantwortlich zu machen sind. Es wäre sehr lehrreich, wenn die theoretischen Erwägungen an der Hand genauer Daten bei einem großen Material nachgeprüft werden könnten.

Aus Kloses Arbeit ist noch anzuführen, daß bei einer großen Anzahl Blutproben, die eingesandt wurden, der Gruber-Widal für Typhus und Paratyphus B völlig negativ war, während er für Paratyphus A in 3,9 Proz. bis zu einer Verdünnung von 1 : 50, in 1 Proz. von 1 : 100, in 0,6 Proz. von 1 : 200 und in 0,2 Proz. von 1 : 1000 ein positives Ergebnis zeitigte. Der Verfasser stellte aus diesem Befunde die Diagnose auf Paratyphus A, da seines Wissens in dem für das deutsche Heer verwandten Typhusimpfstoff kein Paratyphus A-Stamm enthalten sei und da bei dem Fehlen von Normalagglutininen für Paratyphus B eine positive Reaktion für Paratyphus A von 1 : 50 wohl als genügend angesehen werden könne.

Koehler (47) führt gelegentlich einer Paratyphusepidemie bei einem Regimente im Winter 1915 eine Reihe von Gruber-Widalschen Reaktionen bei Soldaten aus, die mehr oder minder kurz vorher gegen Typhus geimpft worden waren. Er begnügt sich in den einzelnen Fällen nicht mit einer einmaligen Anstellung der Probe, sondern wiederholt sie mehrmals während des Krankheitsverlaufes. Dabei findet er, im Gegensatz zu anderen Autoren, durchschnittlich ziemlich langes Verweilen der Agglutinine im Patientenblut. Die Höhe des Bluttiters ist im allgemeinen niedrig, doch gelegentlich auch recht hoch. Besonders auffällig sind 2 Fälle, in denen nach anfänglich niederem Agglutiningehalt des Blutes lange nach Krankheitsbeginn plötzlich sehr hohe Agglutinationswerte gefunden werden. In dem einen Falle trat 8 Wochen nach dem ersten fieberfreien Tage überraschend eine Verklebung von Paratyphus A-Bacillen bis zu einer Serumverdünnung von 1 : 3200 ein. Eine hohe Agglutination zeigte sich in dem zweiten Falle kurz vor der Entlassung.

Ueber die Abgestimmtheit des Paratyphus A-Widals äußert sich Koehler, sie sei eine recht hohe bei Verwendung von Serum niemals an Paratyphus erkrankter Menschen, dagegen sehr gering innerhalb der Typhus-, Paratyphusgruppe. Gut beleuchtet wird diese Tatsache durch eine tabellarische Zusammenstellung:

Titer des Kranken- serums	Die links vermerkten Titerhöhen für die folgenden 4 Bakterien- stämme wurden bei den Seren Paratyphus A-Kranker beobachtet			
	Typhus	Paratyphus B	Paratyphus A	Pseudodysent. A
1:50	bei 18 % der Sera	bei 41 % der Sera	bei 34 % der Sera	bei 60 % der Sera
1:100	" 22 " " "	" 27 " " "	" 12 " " "	" 20 " " "
1:200	" 23 " " "	" 19 " " "	" 26 " " "	" 13 " " "
1:400	" 21,5 " " "	" 8 " " "	" 10 " " "	" 3 " " "
1:800	" 13 " " "	" 2 " " "	" 7 " " "	—
1:1600	" 0,5 " " "	" 3 " " "	" 6 " " "	bei 4 % der Sera
1:3200	" 2 " " "	—	" 3 " " "	—
1:6400	—	—	" 2 " " "	—
	100 %	100 %	100 %	100 %
Mittel	2,96	2,13	2,83	1,76

Eigene Versuche.

Es ist mir leider nicht möglich gewesen, öfter Blutserum von Paratyphus A-Patienten zu erhalten, und nur in einem Falle habe ich den Gruber-Widal während des Fieberstadiums anstellen können. Es handelt sich dabei um einen Soldaten, bei dem am 9. Krankheitstage Typhus- und am 23. Paratyphus A-Bacillen gefunden wurden. Die Serumprüfung erfolgte 2mal, am 9. und am 41. Krankheitstage. Der 1. Tag fiel in das Ende der Pyrexie. Der Mann war Anfang August zuletzt gegen Typhus geimpft worden. Das Datum des 1. Gruber-Widal ist der 18. X., das des 2. der 20. XI. Der Fall verlief klinisch als leichter Typhus.

Tabelle I.

	Verklebung	
	18. X.	20. XI.
Typhus (Labor.-Stamm)	500	300
Paratyphus A (eigener Stamm)	—	200
Paratyphus A (fremder Stamm)	—	0

Tabelle II.

	Verklebung am 27. XI. 1916	
	nach 3 Std. bei 37°	nach weiterem 16-stündigen Stehen bei Zimmertemperatur
Typhus (Labor.-Stamm)	500	1000
Paratyphus B (Labor.-Stamm)	0	400
Paratyphus A (eigener Stamm)	0	100
Paratyphus A (fremder Stamm)	0	100

12*

Paratyphus A-Rekonvaleszent, klinisch leichter Typhus, Dauer des Fieberstadiums: 16 Tage, Gruber-Widal am 28. Tage der Apyrexie, letzte Typhusimpfung: Juni 1916. Diese Tatsache erklärt das Vorhandensein der hohen Typhusagglutinine. Woher die starke Verklebung der Paratyphus B-Bacillen kommt, läßt sich nicht sagen. Vielleicht handelt es sich lediglich um Mitverklebung. Andererseits muß man aber auch daran denken, daß Paratyphus B-Bacillen bei Tieren und Menschen häufig gefunden werden und daher Agglutinine von einer vorübergehenden Einsaat im Blute aus irgendeiner Zeit noch vorhanden gewesen sein können und gelegentlich der überstandenen Paratyphus A-Infektion sich wieder vermehrt haben. Charakteristisch und bedeutsam ist, daß die Agglutinine für Paratyphus A bereits völlig wieder verschwunden sind. Da in der Pyrexie kein Gruber-Widal angestellt wurde, läßt sich allerdings nicht mit Gewißheit sagen, ob überhaupt hohe Agglutinine für Paratyphus A gebildet worden waren.

Tabelle III.

	Verklebung am 27. XI. 1916	
	nach 3 Std. bei 37°	nach weiterem 16-stündigen Stehen bei Zimmertemperatur
Typhus (Labor.-Stamm)	100	200
Paratyphus B (Labor.-Stamm)	100	100
Paratyphus A (fremder Stamm)	100	500

Paratyphus A-Rekonvaleszent, klinisch leichter Typhus, Dauer des Fieberstadiums: 21 Tage, Gruber-Widal am 23. Tage der Apyrexie, letzte Typhusimpfung: Juni 1916. Hier ist der Gruber-Widal, nachdem Antigen und Antikörper genügend lange aufeinander eingewirkt haben, doch recht eindeutig für Paratyphus A. Diese Tatsache ist bei der fortgeschrittenen Rekonvaleszenz bemerkenswert.

Tabelle IV.

	Verklebung am 4. XII. 1916	
	nach 3 Std. bei 37°	nach weiterem 16-stündigen Stehen bei Zimmertemperatur
Ty (Labor.-Stamm)	0	100
B (Labor.-Stamm)	0	0
A (eigener Stamm)	100	200
A (fremder Stamm)	200	200

Es handelt sich um einen Paratyphus A-Bacillenträger. Nähere Daten konnte ich leider nicht in Erfahrung bringen.

Tabelle V.

	Verklebung am 4. XII. 1916	
	nach 3 Std. bei 37°	nach weiterem 16-stündigen Stehen bei Zimmertemperatur
Ty (Labor.-Stamm)	500	2000
B (Labor.-Stamm)	100	100
A (fremder Stamm)	500	500

Tabelle VI.

	Verklebung am 4. XII. 1916	
	nach 3 Std. bei 37°	nach weiterem 16-stündigen Stehen bei Zimmertemperatur
Ty (Labor.-Stamm)	500	500
B (Labor.-Stamm)	0	100
A (fremder Stamm)	200	200

Tabelle V und VI enthalten den Gruber-Widal von 2 Paratyphus A-Rekonvaleszenten, über die mir nähere Daten fehlen. Beide sind jedenfalls mehrmals gegen Typhus geimpft.

Tabelle VII.

	Verklebung am 4. XII. 1916	
	nach 3 Std. bei 37°	nach weiterem 16-stündigen Stehen bei Zimmertemperatur
Ty (Labor.-Stamm)	0	0
B (Labor.-Stamm)	0	0
A (fremder Stamm)	0	0

Tabelle VII bringt das Ergebnis des Gruber-Widal bei einem Paratyphus A-Bacillenträger, der nicht gegen Typhus geimpft worden war. Es wurden einmal Paratyphus A-Bacillen gefunden. Ein Bruder war kurz vorher an Typhus erkrankt. Im Orte waren anscheinend mehrere Paratyphus A-Infektionen erfolgt.

Tabelle VIII.

	Verklebung am 4. XII. 1916	
	nach 3 Std. bei 37°	nach weiterem 16-stündigen Stehen bei Zimmertemperatur
Ty (Labor.-Stamm)	0	0
B (Labor.-Stamm)	0	0
A (fremder Stamm)	100 ±	100 ±

Tabelle VIII gibt den Gruber-Widal bei einem Mann, der 1915 einen Typhus durchgemacht hat, im August 1916 zuletzt gegen Typhus geimpft worden ist und vom 6. IX. bis 15. XI. 1916 an Paratyphus A erkrankt gewesen ist. Der Gruber-Widal wurde am 4. XII. 1916 angesetzt. Auffällig ist das Fehlen aller Agglutinine für Typhus und das Vorhandensein geringer Werte für Paratyphus A. Ein Beispiel für individuelle Schwankung.

Zusammenfassung:

1) Der Gruber-Widal bei Paratyphus A bestätigt in vielen Fällen die durch Bacillennachweis erhärtete Diagnose, daß es sich um Paratyphus A handelt.

2) In einer größeren Reihe von Fällen versagt er jedoch. In Abschnitt B II ist festgestellt worden, daß der Gruber-Widal für Paratyphus A sprechen kann, während eine andersartige Infektion vorliegt. In Abschnitt C II hat sich nunmehr gezeigt, daß umgekehrt auch der Gruber-Widal auf eine andersartige Infektion deuten kann, während es sich in der Tat um einen Paratyphus A handelt.

3) Die Erklärung bietet bis zu einem gewissen Grade die Tatsache, daß der Agglutiningehalt des Blutes an Haupt- und Nebenagglutininen in den verschiedenen Krankheitsstadien verschieden ist, ja daß er von einem Tage zum anderen große Schwankungen durchmachen kann, und zweitens die Möglichkeit, daß Agglutinine durch Impfung oder von früher überstandenen Infektionskrankheiten noch im Blute kreisen und auf Grund des neuen Infektionsprozesses eine nicht unbedeutende schnell vorübergehende, mehr oder minder lange anhaltende Vermehrung erfahren können.

4) Die Diagnose eines Paratyphus A kann somit niemals allein auf Grund des Gruber-Widal gestellt werden. Ganz besonders gilt das für die nachträgliche Diagnose in der Rekonvaleszenz. Es darf jedoch die Gruber-Widalsche Reaktion als wertvolles Hilfsmittel zur Ergänzung der Diagnose herangezogen werden.

D. Ueber Paragglutination bei Paratyphus A.

Ich verlasse nunmehr die altbegangenen Bahnen und wende mich Erscheinungen zu, die in mehr oder minder engem

Zusammenhänge mit der von Kuhn und Woithe (50) 1909 entdeckten Paragglutination stehen. Es sei mir gestattet, zunächst ganz kurz auf den neuesten Stand der Paragglutinationslehre einzugehen. Dieser Aufgabe glaube ich am besten gerecht zu werden, daß ich aus der letzten Arbeit von Herrn Prof. Kuhn (53), deren Manuskript mir von dem Herrn Verfasser in liebenswürdigster Weise zur Verfügung gestellt wurde, die 3 ersten Sätze der Zusammenfassung bringe:

„1) Paragglutination von Bakterien ist nicht wie die Mitagglutination eine bleibende Rezeptorengemeinschaft zwischen nahen Verwandten, sondern die Verklebbarkeit nicht pathogener Stämme, die ihnen durch das Zusammenleben mit pathogenen Stämmen im Körper angezüchtet worden ist.

2) Die Erscheinung kann bis zur Titergrenze und darüber hinaus auftreten. Sie kann sich auch auf schwache Verdünnungen des Serums beschränken. Eine willkürliche Abgrenzung der Erscheinung nach unten bei einem bestimmten Verdünnungsgrade ist unzulässig.

3) Entscheidend ist einstweilen allein die Vergänglichkeit der Erscheinung, die mit der Häufigkeit der Weiterimpfung eintritt. Welchen Einfluß die Zeit an sich ausübt, muß noch festgestellt werden.“

Die Kenntnis der Paragglutination ist wichtig, weil nach Kuhn paragglutinable Bakterien als Leitbakterien dienen können und weil die Unkenntnis der Paragglutination leicht zu verhängnisvollen Irrtümern führt. Die Tatsache der Paragglutination fordert auf, ein Bakterium nur dann als den ursächlichen Erreger einer Krankheit anzusehen, wenn es sich agglutinatorisch und kulturell einwandfrei verhält. Die Frage, ob paragglutinable Bakterien, die an und für sich harmlos sind, mit der Paragglutination auch pathogene Eigenschaften erwerben, ist noch nicht entschieden.

Der erste, der das Wort „Paragglutination“ in der Paratyphus A-Literatur anwendet, ist Lehmann (28). In seiner Arbeit „Zur Biologie des Paratyphus A“ bezeichnet er die von Schöne (41) 1910 aus Darminhalt von Schweinen und von Menschen gewonnenen, durch Paratyphus A-Immunserum verklebbaren Stämme als paragglutinable Stämme. Leider begründet er seine Ansicht nicht näher. Vielleicht schließt er aus der Höhe der Verklebung. Dem wäre aber entgegenzuhalten, was Kuhn in seiner letzten Arbeit gegenüber Ditthorn und Neumark (54) betont: „Es ist

gleichgültig, wie weit diese Verklebbarkeit reicht. Eine Agglutination bis zur Verdünnung von 1:1000 oder 1:200, ja 1:50 kann ebensogut Paragglutination sein, wie bis zur Titergrenze. Das wichtigste Kennzeichen der Paragglutination ist die Vergänglichkeit bei häufigen Ueberimpfungen des Stammes.“ Dabei ist natürlich nicht ausgeschlossen, wie Kuhn an anderer Stelle betont, daß diese Verklebbarkeit auch besonders hartnäckig sein kann.

Um über die von Schöne aus dem Schweinedarm gewonnenen, durch Paratyphus A-Immunserum verklebbaren Stämme etwas Bestimmtes im Sinne der Paragglutination aussagen zu können, müßte zunächst die Frage des Paratyphus A bei Tieren näher geklärt sein. Daß es sich bei den 3 mit Paratyphus A-Serum verklebbaren Colistämmen aus Menschen-darm um paragglutinierende Stämme gehandelt hat, ist wohl denkbar, doch bei dem Fehlen aller weiteren Daten nicht mit Sicherheit zu sagen. Es kann ebensogut eine Mitagglutination zugrunde liegen. Etwas anderes ist es mit 3 von Lehmann, Mäulen und Schrickler beschriebenen Colistämmen, die gelegentlich einer Paratyphus A-Epidemie isoliert, und zwar in einem Falle sogar zusammen mit Paratyphus A-Bacillen, gefunden worden sind. Wie wir gesehen haben, rechtfertigt hohe Verklebbarkeit allein durchaus nicht, von Paragglutination zu reden. Allein bei den Lehmannschen Stämmen spricht die Epidemiologie so überzeugend mit, daß die Annahme, es handle sich um Paragglutination, ohne weiteres gerechtfertigt ist, obgleich die Vergänglichkeit der Erscheinung nicht geprüft wurde. Aber gerade hier redet Lehmann nicht offen von Paragglutination, sondern begibt sich auf das Gebiet der Zwischenglieder oder, wie die Franzosen sagen, der „bacilles intermédiaires“. Da die Frage nicht allein interessant ist, sondern grundlegende Bedeutung besitzt, so lasse ich Lehmann selbst die näheren Daten über seine Stämme geben. Er sagt:

„Neben diesen bisher beschriebenen typischen Paratyphus A-Stämmen wurde noch bei 3 klinisch Erkrankten ein Stamm gefunden, welcher von Paratyphus A-Serum hoch, in einem Falle, der im Medizinalkollegium in Stuttgart untersucht wurde, sogar bis 5000 verklebt wurde; der weiterhin auf Endo recht verdächtige, klare, wenn auch dichtere Kolonien als Paratyphus A ergab, der aber den chemischen Proben nach sich ganz so verhielt wie Coli. In 2 Fällen fand sich dieser Stamm allein, im dritten neben dem echten Stamm.

Name	No.	Agglutination							
		A-Serum						B-Serum	Ty-Serum
		100	200	500	1000	2000	5000	100	100
Mü.	3167	+++	+++	++	±
Ja. 19. 3.	2258	+++	+++	+++	+++	±	.	±	±
„ 25. 3.	„	+++	+++	+++	+++	.	.	±	±
Fr. Stuttgart	.	+++	+++	+++	+++	?	++	.	.

Es ist kaum anzunehmen, daß diese Stämme wirklich mit der Krankheit in ursächlichem Zusammenhange stehen. Sie wurden auch nicht aus dem Blute isoliert. Dagegen ist ihr Auftreten bei klinisch als Paratyphus A erwiesenen bzw. zugleich bakteriologisch sicheren (Fr.) Fällen nicht ohne Interesse. Man wird auf solche Stämme bei Paratyphus A-Erkrankungen auch später achten mögen, schon deshalb, weil die weitgehende Agglutinabilität hier und da Verdacht erwecken kann.“

Im Anschluß an diese Betrachtungen fährt Lehmann fort:

„Sie gewinnen vielleicht dadurch noch an Interesse, daß Raynaud (38) und Nègre einen Bacillus isolierten, der in mancher Beziehung zwischen Typhus und Paratyphus A stand. Es erscheint mir danach sehr wahrscheinlich, daß wir noch weitere recht verschiedenartige solcher Zwischenformen beschreiben werden.“

Demgegenüber möchte ich die vorerwähnten Colistämme in das Gebiet der Paragglutination rechnen und den von Raynaud und Nègre beschriebenen Stamm zu den Paratyphus A-Bacillen zählen. Daß ich in meinem Urteil über den Raynaud-Nègreschen Bacillus recht habe, will ich auf Grund der Lehmannschen Arbeit „Zur Biologie des Paratyphus A“ und des Aufsatzes von Bieling (7) in der Deutschen med. Wochenschr., 1916, No. 18 beweisen.

Raynaud und Nègre beschreiben ihren Bacillus, wie folgt:

„1) Er ist ein wenig dicker und etwas weniger beweglich als der Typhusbacillus. Auf Gelatine, Kartoffel und Artischocke zeigt er alle Eigenschaften des Typhusbacillus. Aber auf Agar gibt er größere und opakere Kolonien. Er vergärt Glukose, Lävulose und Mannit. Milch koaguliert er nicht. Er verfärbt bis zu einem gewissen Grade das Neutralrot.

2) Er wird bis zu einer Serumverdünnung von 1:5000 von Typhus- und Paratyphus A-Immunserum verklebt. Durch Paratyphus B-Immunserum findet keine Verklebung statt.

3) Er ist weniger virulent gegen Mäuse als der Typhusbacillus.“

Die Virulenzfrage ist ein so strittiges Gebiet, daß ich sie wohl ohne Gefährdung des sicheren Urteils außer acht lasse. Dadurch, daß der *Bacillus Neutralrot* verfärbt, Glukose, Lävulose und Mannit vergärt, unterscheidet er sich ohne weiteres vom *Typhusbacillus*. Kutscher und Meinicke sagen schon 1906 klar und bestimmt: „was aus Traubenzucker Kohlensäure bildet, hat sicher nichts mit Typhus zu tun“. Lehmann und Bieling betonen übereinstimmend, daß *Typhusbacillen* weder Glukose noch Mannit vergären. Bieling hat auch Lävulose untersucht und gibt das Gleiche von ihr an. Lehmann und Bieling behaupten übereinstimmend, die Vergärung von Glukose und Mannit sei eine Eigenschaft des *Bacillus paratyphosus A*. Bieling bemerkt dasselbe noch von Lävulose. Damit scheint mir die biologische Zugehörigkeit des Raynaud-Nègreschen *Bacillus* zum *Paratyphus A* zur Genüge erwiesen. Ueber die agglutinatorische Zugehörigkeit kann nach den Angaben der französischen Autoren auch kein Zweifel bestehen. Daß gleichzeitig eine sehr hohe Verklebbarkeit durch Typhusimmunserum vorhanden ist, zwingt durchaus nicht, nun eine besondere Zwischenstufe zu schaffen.

Raynaud und Nègre verweisen zur Unterstützung ihrer Zwischenstufentheorie auf Veröffentlichungen anderer Autoren. Ich möchte hier noch kurz auf eine Arbeit von G. Faroy (14) eingehen.

Es handelt sich um einen Fall, der unter schwersten typhösen Erscheinungen in 50 Tagen zum Exitus kommt. Aus dem Blut wird ein *Bacillus* isoliert, der kulturell als *Paratyphus A* imponiert. Agglutinatorisch verhält er sich aber nicht typisch. Durch ein Kaninchenserum, das mit ihm gewonnen wurde, wird er bis zu einer Verdünnung von 1:5000 verklebt. Dieses Serum agglutiniert einen einwandfreien *Paratyphus A*-Stamm bis zu einer Verdünnung von 1:1000 vollständig und einen Typhusstamm ebenso hoch unvollständig. Umgekehrt wird dieser *Bacillus* von *Paratyphus A*- und B-Serum, sowie von Gärtner-Serum gar nicht, von Typhusimmunserum mit dem Titer 10000 in sehr geringem Grade bis zu einer Verdünnung von 1:200 verklebt.

Nach Monaten, nachdem der *Bacillus* über verschiedene Nährböden gegangen ist, wird sein agglutinatorisches Verhalten neu geprüft, leider aber nicht sein kulturelles. Wenigstens ist nichts darüber gesagt. Es zeigt sich, daß er durch *Paratyphus A*-Serum unvollständig in Verdünnungen von 1:50 bis 1:5000 verklebt wird, während Typhusserum gegenüber sofort eine schöne und vollständige Reaktion bis zur Titergrenze 10000 eintritt. Die Autoren schließen aus diesem Verhalten auf eine Zwischenart: „ce bacille a donc sa place entre le bacille d'Eberth et le paratyphique A de Brion et Kayser“.

Diese Auffassung ist wohl zu beachten, erscheint aber noch nicht bewiesen. Zeigte der Bacillus bei der Wiederholung der Agglutinationsprüfung noch sein altes, für Paratyphus A sprechendes kulturelles Verhalten, so hätte die Agglutination, falls sie mit mehreren Paratyphus A-Seris wiederholt worden wäre, vielleicht die Zugehörigkeit des Bacillus zu Paratyphus A ergeben. Für Typhus hätte dann eine hohe Mitverklebung bestanden. Oder umgekehrt, hätte die Kultur jetzt für Typhus gestimmt, so wäre der Stamm eben seinerzeit verunreinigt gewesen und bei den verschiedenen Umzüchtungen gereinigt worden. Dann würde er agglutinatorisch allerdings eine auffällige Beeinflußbarkeit durch Paratyphus A-Immunserum besessen haben.

Eine interessante Beobachtung, die mit Hilfe der Paragglutinationstheorie zwanglos erklärt werden kann, bringt Koehler (47) in seiner Arbeit „Bakteriologisches über Paratyphus A-Erkrankungen im Felde“. Er züchtete aus dem Stuhl eines Paratyphus A-Dauerausscheiders ein Stäbchen, das, abgesehen von einer schwachen bis fehlenden Beweglichkeit, in allen morphologischen und kulturellen Merkmalen dem Bacterium paratyphi A vollständig gleich, aber serologisch als selbständiger Stamm erschien mit spezifischen agglutinogenen Eigenschaften, die gestatteten, es vom Paratyphus A-Bacillus wie von den übrigen Vertretern der Typhus-Paratyphus-Gruppe zu unterscheiden. Koehler läßt die Frage offen, wohin das Stäbchen, das er als inagglutinablen Stamm bezeichnet, zu rechnen und wie seine agglutinogenen Eigenschaften zu erklären seien. Die fehlende Beweglichkeit verbietet seine Identifizierung mit dem Bacterium paratyphi A. Ueber die agglutinogenen Eigenschaften berichtet Koehler, daß das fragliche Bacterium im Serum von Kaninchen, die mit ihm geimpft wurden, Agglutinine gegen sich selbst, gegen Typhus- und gegen Paratyphus A-Bacillen gebildet habe. Gewonnen wurde es aus dem Darm eines Paratyphus A-Dauerausscheiders, der gegen Typhus geimpft worden war. Es stand somit unter der Einwirkung von durch Typhus- und durch Paratyphus A-Erregern spezifisch veränderten Körpersäften. Diese Einwirkung ging nicht so weit, daß das Bacterium in seinen agglutinatorischen Eigenschaften beeinflußt worden wäre, wohl aber wurden ihm agglutinogene Eigenschaften im Sinne einer Typhus- und einer Paratyphus A-Agglutininbildung angezüchtet. Es handelt sich also um einen Darmschmarotzer, der unter der Einwirkung spezifisch veränderter Körpersäfte spezifische agglutinogene Eigenschaften im Sinne der Kuhn-Woitheschen Paragglutination erworben hat.

Eigene Versuche.

Ich selbst kann über einen Fall berichten, der mir einen Paratyphus A-Stamm lieferte, welcher mit dem von Raynaud

und Nègre beschriebenen in seinem agglutinatorischen Verhalten übereinstimmt. Es handelt sich um einen Soldaten, bei dem zunächst Typhus und dann Paratyphus A-Bacillen gefunden wurden. Die Paratyphus A-Bacillen wurden von Typhusimmunserum sehr hoch beeinflusst. Der Befund von Typhusbacillen ließ an eine durch die spezifisch veränderten Körpersäfte im Sinne der Kuhn-Woitheschen Paragglutinationslehre erfolgte Anzüchtung von Rezeptoren für Typhusagglutinine denken. Es wurde sofort in einer Reihe aufeinander folgender Ueberimpfungen die Vergänglichkeit der Erscheinung geprüft. Dabei ergab sich folgendes Bild:

Tabelle I.

	Verklebung								
	1. Ue.	2. Ue.	3. Ue.	4. Ue.	5. Ue.	6. Ue.	7. Ue.	8. Ue.	9. Ue.
Ty	3000	10 000	10 000	8000	2000	3000	2000	300	200
B	100	100	200	0	100	100	0	0	0

Hätte mit dieser niedrigen, als normale Mitagglutination von Paratyphus A-Bacillen durch hochwertiges Typhusimmunserum anzusprechenden Beeinflussung die Versuchsreihe ihren Abschluß gefunden, so wäre Paragglutination erwiesen gewesen.

Fortgesetzte Ueberimpfungen und Agglutinationsversuche zeigten aber nachstehendes Ergebnis:

Tabelle II.

Stämme	Verklebung								
	15. Ue.	16. Ue.	17. Ue.	18. Ue.	19. Ue.	20. Ue.	21. Ue.	22. Ue.	
A	5000	2000	5 000	5000	2000	2000	2 000	2 000	a
Ty	2000	2000	2 000	5000	5000	2000	2 000	5 000	
B	.	.	.	2000	500	200	200	500	
A	5000	5000	10 000	5000	5000	2000	10 000	10 000	b
Ty	5000	5000	5 000	5000	5000	5000	5 000	5 000	
B	.	.	.	2000	1000	1000	1 000	1 000	

Tabelle II (Fortsetzung).

Stämme	23. Ue.	24. Ue.	25. Ue.	26. Ue.	28. Ue.	31. Ue.			
A	2000	2000	5000	2000	1000	10 000			a
Ty	2000	2000	2000	2000	2000	5 000			
B	500	200	200	500	500	200			
A	2000	5000	5000	2000	2000	10 000			b
Ty	2000	2000	2000	2000	2000	5 000			
B	500	500	200	500	500	500			

Das verwandte Paratyphus A-Serum hatte einen Titer von 5000, das Typhusserum von 10000, das Paratyphus B-Serum von 2000. Alle 3 Sera waren Kaninchensera aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt in Berlin. Abgelesen wurde nach 3 Stunden bei 37° und nach weiterem 16-stündigen Verweilen bei Zimmertemperatur. Als positiv wurde jede im Agglutinoskop nach Kuhn und Woithe einwandfrei verklebte Probe angesehen.

Aus Tabelle II ergibt sich, daß die Beeinflussung des Paratyphus A-Stammes durch Typhusimmunserum, die bereits annähernd verschwunden war, bei weiterer Ueberimpfung plötzlich wieder zu einem hohen Grade ansteigt. Diese Sprunghaftigkeit wird bereits von Kuhn (53) in seiner letzten Paragglutinationsarbeit bei paragglutinablen Stämmen beschrieben. Ebenso weist er darauf hin, daß sich der Agglutinationstiter gelegentlich mit großer Zähigkeit auf seiner Höhe erhalte. Es muß weiterer Nachprüfung überlassen bleiben, ob nicht doch die Verklebbarkeit durch Typhusimmunserum bei unserem Stamme wieder verschwindet. Damit wäre die Annahme, daß es sich um einen durch Typhusimmunserum paragglutinablen Paratyphus A-Stamm handle, gesichert. Andererseits kann man aber auch theoretisch die Erwerbung einer dauernden Rezeptorengemeinschaft und damit einer dauernden Paragglutination nicht ohne weiteres ablehnen. Dieser Standpunkt ist ebenfalls bereits von Kuhn vertreten worden. Daß es sich im vorliegenden Falle um einen pathogenen Stamm und nicht um einen nicht pathogenen Stamm handelt, dürfte, obwohl Kuhn bisher den Ausdruck Paragglutination in der Literatur nur für nicht pathogene Stämme anwendet, kein Hindernis sein, die Bezeichnung auch bei dem beschriebenen Paratyphus A-Stamm zu gebrauchen. Ich berufe mich hierbei auf persönliche Äußerungen von Herrn Prof. Kuhn, durch die er mich darauf aufmerksam machte, daß die Erscheinung der Paragglutination zwar hauptsächlich an Colistämmen studiert worden sei, natürlich aber auch von jedem pathogenen Stamm erworben werden könne. Ob bei Raynaud und Nègre und bei Faroy Paragglutination im Spiele ist, kann ebenfalls nicht entschieden werden. Endlich könnte es sich bei meinem Paratyphus A-Stamm auch um eine hohe Mitagglutination für Typhus handeln.

Zusammenfassung:

Die an Colibacillen gelegentlich von Ruhrepidemien entdeckte Paragglutination wird auch an Colibacillen bei Paratyphus A-Erkrankungen gefunden. Doch nicht nur die nicht-pathogenen Colibacillen, auch die pathogenen Paratyphus A-Bacillen können die Eigenschaft der Paragglutination zeigen. Der Einfluß spezifisch veränderter Körpersäfte braucht nicht immer so weit zu gehen, daß die ihm unterworfenen Bacillen neue agglutinatorische Eigenschaften erwerben, sondern kann sich auch auf die Anzüchtung lediglich agglutinogener Fähigkeiten beschränken.

Schlußzusammenstellung.

1) Paratyphus A-Bacillen werden, soweit sie aus menschlichen Ausscheidungen stammen und kulturell einwandfrei sind, von Paratyphus A-Immunseris, die mit menschlichen Paratyphus A-Bacillen gewonnen worden sind, in der Regel bis zur Titergrenze und darüber hinaus verklebt. Geringe Schwankungen kommen vor.

2) Paratyphus A-Bacillen, aus tierischen Ausscheidungen, können, obwohl sie kulturell einwandfrei sind, gegenüber Paratyphus A-Immunserum, das durch Bacillen aus dem menschlichen Körper erhalten wurde, ein völlig indifferentes Verhalten zeigen. Die Frage, inwieweit echte Paratyphus A-Bacillen bei Tieren vorkommen, bedarf noch der Klärung.

3) Paratyphus A-Bacillen werden von hochwertigem Typhus-, Paratyphus B-, Mäusetyphus-, Gärtner-, Coli- und Faecalis alcaligenes-Serum nur sehr niedrig mitverklebt. In der Regel nicht über eine Verdünnung von 100 oder 200. Die Verwendung von Seris mit niedrigem Titer ist zur Vermeidung falscher Schlüsse zu widerraten.

4) Die Mitagglutination von Paratyphus A-Bacillen durch heterologes Immunserum wird durch fortgesetzte Ueberimpfung der Stämme nicht wesentlich beeinflußt.

5) Die Höhe der Mitagglutination von Paratyphus A-Bacillen durch heterologe Sera geht nicht durchaus parallel der steigenden oder fallenden Verklebbarkeit durch homologes Serum. Sie kann ihr entsprechen, braucht es aber nicht.

6) Die Höhe der Verklebbarkeit von Paratyphus A-Bacillen ist in der Regel nach 3-stündigem Aufenthalt bei 37° im Brut-

schränk oder gemäß den Erfahrungen der Bakteriologischen Anstalt für Elsaß nach 10 Minuten langem Zentrifugieren erreicht. Es tritt jedoch in einem nicht unerheblichen Prozentsatz der Fälle noch eine verspätete Agglutination ein, sobald die Agglutinationsröhrchen noch längere Zeit (16 Stunden) bei Zimmertemperatur stehen gelassen werden. Die Ablesung erfolgt am besten makroskopisch unter Nachprüfung durch das Agglutinoskop.

7) Soll Paratyphus A-Infektion auf Grund des Gruber-Widal, d. h. durch Prüfung der Verklebbarkeit der Paratyphus A-Bacillen durch Krankenserum, bei Krankheiten mit klinisch verwandtem Bilde (Typhus und Paratyphus B) ausgeschlossen werden, so stößt die einwandfreie Lösung dieser Frage dadurch auf Schwierigkeiten, daß recht beachtenswerte Angaben vorliegen, nach denen Sera von Typhus-, Paratyphus B- und febrilem Ikterus-Kranken Paratyphus A-Bacillen hoch, ja sogar höher als die eigentlichen Erreger verkleben können. Andererseits überwiegen jedoch die Mitteilungen, daß die Paratyphus A-Bacillen von heterologem Krankenserum nicht so stark, und so bald es sich um hochwertiges Krankenserum handelt, bei weitem nicht so stark verklebt werden, als daß sie mit den ursächlichen Erregern verwechselt werden könnten. Um in Zweifelsfällen, falls nicht der einwandfreie Erregernachweis Aufklärung bringt, dennoch zum Ziel zu kommen, sind verschiedene Vorschläge gemacht worden, ohne daß die Frage in praktischer Weise gelöst worden wäre.

8) Paratyphus A-Immunserum verklebt heterologe Stämme bis zu einem gewissen Grade mit. Diese Mitverklebung kann zuweilen recht hoch sein, erreicht aber, soweit es sich um einfache Mitverklebung handelt, nur sehr selten die Titergrenze.

9) Die Gruber-Widalsche Reaktion bestätigt bei Paratyphus A-Infektion oft die durch einwandfreien Bacillennachweis erhärtete Diagnose.

10) In einer großen Reihe von Fällen versagt sie jedoch. Der Gruber-Widal kann für Paratyphus A sprechen, während eine andersartige Infektion vorliegt, umgekehrt aber auch auf eine andersartige Infektion deuten, während es sich in der Tat um Paratyphus A handelt.

Die Erklärung liegt bis zu einem gewissen Grade in der Tatsache, daß der Agglutiningehalt des Blutes an Haupt- und

Nebenagglutininen in den verschiedenen Krankheitsstadien verschieden ist, ja daß er von einem Tage zum anderen große Schwankungen durchmachen kann, und zweitens in der Möglichkeit, daß Agglutinine, die durch Impfung oder überstandene Infektion noch im Blute kreisen, durch beliebige Neuinfektion eine nicht unbedeutende, mehr oder minder schnell vorübergehende Neubildung erfahren können.

11) Die Diagnose einer Paratyphus A-Infektion kann somit nicht mit vollkommener Sicherheit allein durch den Gruber-Widal gestellt werden. Dies gilt, da die für Paratyphus A-Infektion spezifischen Agglutinine im allgemeinen schnell wieder aus dem Blute verschwinden, besonders für die nachträgliche Diagnosestellung.

12) Wie bei Ruhrepidemien, so sind auch bei Paratyphus A-Epidemien Colibacillen gefunden worden, die von spezifischem Immunserum mehr oder minder hoch, selbst bis über die Titergrenze, verklebt wurden. Die Kenntnis dieser von Kuhn und Woithe als Paragglutination bezeichneten Erscheinung muß zur Vermeidung von Verwechslungen beachtet werden und kann nach Kuhn durch Benutzung der paragglutinablen Bakterien als Leitbakterien für die Diagnose von Wichtigkeit sein. Die Tatsache der Paragglutination bei Paratyphus A fordert, daß nur solche Bakterien als echte Paratyphus A-Bacillen angesprochen werden, die sich agglutinatorisch und kulturell einwandfrei verhalten. Die Frage, ob an und für sich harmlose Bacillen durch Erwerbung der Verklebbarkeit durch Paratyphus A-Immunserum pathogen werden, ist noch nicht entschieden.

Ich schließe meine Arbeit, indem ich mir erlaube, Herrn Oberstabsarzt Prof. Kuhn für die mir gewährten wertvollen Anregungen und die gütige Ueberlassung des Materials meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Literatur.

Zusammenstellungen größeren Stiles über Paratyphus überhaupt und über Paratyphus A im besonderen :

- 1) Hübener, Fleischvergiftungen und Paratyphusinfektionen, Jena 1910.
- 2) Uhlenhuth und Hübener, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, Bd. 3, 1913.
- 3) Lehmann, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 78, 1916.

Zusammenstellung über Agglutinationsliteratur:

- 4) **Paltauf, Kolle-Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. 2, 1913.**

Für die Arbeit besonders in Betracht kommende Literatur:

- 5) **Aoki, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 56, 1910.**
- 6) **Bärthlein, Münch. med. Wochenschr., 1916, Heft 44.**
- 7) **Bieling, Deutsche med. Wochenschr., 1916, No. 18.**
- 8) **Blumenthal, Münch. med. Wochenschr., 1904, No. 37.**
- 9) **Bock, Arb. aus d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 24, 1906.**
- 10) **Brion und Kayser, Münch. med. Wochenschr., 1902.**
- 11) **— Arch. f. klin. Med., Bd. 85, 1906.**
- 12) **Bruns und Kayser, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 43, 1903.**
- 13) **Baermann und Eckersdorff, Berlin. klin. Wochenschr., 1909, No. 40.**
- 14) **Faroy, Société de Biol., 1908, Séance du 20 juin.**
- 15) **Frenzel, Deutsche med. Wochenschr., 1916, No. 32.**
- 16) **Gross, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 47, 1908.**
- 17) **Grünberg und Rolly, Beitrag zur Frage der agglutinatorischen Eigenschaften des Serums Typhuskranker auf Paratyphus und verwandte Bakterien.**
- 18) **Gwyn, John Hopkins Hospital Bull., Vol. 9, 1898.**
- 19) **Hoffmann, Hyg. Rundschau, 1902, Heft 17.**
- 20) **Kaliebe, Münch. med. Wochenschr., 1916, No. 33, Feldärztliche Beilage.**
- 21) **Kayser, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 35, 1904.**
- 22) **Klinger, Münch. med. Wochenschr., 1915, No. 51.**
- 23) **Klose, Münch. med. Wochenschr., 1916, No. 14, Feldärztl. Beilage.**
- 24) **Kolle, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 52, 1906.**
- 25) **Korte, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 44, 1903.**
- 26) **Kutscher und Meinicke, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 52, 1906.**
- 27) **Lehmann, Münch. med. Wochenschr., Bd. 81, 1916.**
- 28) **— Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 81, 1916.**
- 29) **— Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 78, 1916.**
- 30) **— Mäulen und Schricker, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 82, 1916.**
- 31) **Levy und Gäthgens, Arb. aus d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 25, 1907.**
- 32) **Lippschütz, Centralbl. f. Bakt., Bd. 35, 1904.**
- 33) **Loewenthal, Med. Klin., 1916, No. 20.**
- 34) **— Münch. med. Wochenschr., 1916, No. 46.**
- 35) **Oesterlein, Wiener klin. Wochenschr., 1916, No. 9.**
- 36) **Porcile, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 50, 1905.**
- 37) **Purjesz, Wiener klin. Wochenschr., 1910.**
- 38) **Raynaud et Nègre, Société de Biol., 1912, p. 534—535.**
- 39) **Rolly, Münch. med. Wochenschr., 1911, No. 11 u. 12.**
- 40) **Schmitz, Annemarie, und Kirschner, Leop., Münch. med. Wochenschr., 1916, No. 1.**

194 Max Uckermark, Ueber Agglutination bei Paratyphus A.

- 41) Schöne, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 65, 1910.
- 42) Schottmüller, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 36, 1901.
- 43) Springer, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 60, 1911.
- 44) Schultz, Deutsche med. Wochenschr., 1909, No. 13.
- 45) Svestka, Wiener klin. Wochenschr., 1916, No. 16.
- 46) Jochmann, Lehrbuch der Infektionskrankheiten.
- 47) Koehler, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 78, 1916.
- 48) v. Tabora, Münch. med. Wochenschr., 1915, No. 13.
- 49) Zupnik, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 47, 1904.

Paragglutinationsliteratur:

- 50) Kuhn und Woithe, Med. Klin., 1909, No. 45.
 - 51) — Med. Klin., 1916, Heft 30.
 - 52) — und Ebeling, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 25, 1916.
 - 53) — Arch. f. Hyg., Bd. 86.
 - 54) Ditthorn und Neumark, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 67, 1913.
- (G. C.)

Bemerkung zu E. Friedberger:

**Bemerkungen zu vorstehender Arbeit von Massini:
Ueber die anaphylaktische Reaktion des Meer-
schweinchendarmes. Diese Zeitschr., Bd. 25, p. 183.**

Von Dr. **Rudolf Massini**,
Privatdozent und Sekundärarzt der Klinik.

(Eingegangen bei der Redaktion am 2. September 1917.)

Friedberger stellt meine Versuche (diese Zeitschr., Bd. 25, 1916, p. 179) lediglich als Bestätigung seiner Befunde dar. Da das nicht den Tatsachen entspricht, möchte ich nur kurz einige Sätze aus den beiden Arbeiten nebeneinanderstellen, um dem Leser dann die Beurteilung zu überlassen.

E. Friedberger und Kumagai¹⁾.

p. 277. Beim Meerschweinchen ist die Darmbewegung überhaupt sehr schwach; sehr geeignet sind dagegen der Kaninchendarm und der Katzendarm.

R. Massini.

p. 183. Die anaphylaktische Reaktion läßt sich leicht und objektiv am in Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm nachweisen.

1) Diese Zeitschr., Bd. 22, 1914, p. 269.

p. 274. Dale hat auch bei passiv präparierten Tieren den Uterus empfindlich gefunden; unsere in dieser Richtung erhaltenen negativen Resultate stehen damit in Widerspruch.

p. 287. Es ergibt sich aus diesem Versuch, daß bei der von uns gewählten Versuchsanordnung der Darm immunisierter Kaninchen sich nicht anders verhält wie der normaler.

p. 302. Wie man an der Kurve sieht, hat das Hammelserum einen ganz geringfügigen Einfluß auf die Darmbewegung eines präparierten Tieres ausgeübt, aber es trat bereits keine Beeinflussung mehr auf, nach dem das Hammelserum 4-fach bzw. doppelt mit Ringerscher Lösung verdünnt war.

p. 303. Es reagiert also nach diesen Versuchen der Darm präparierter Tiere gegenüber dem Hammelserum nicht wesentlich anders wie der normale.

p. 305. Der Darm präparierter Kaninchen ist gegenüber dem homologen Antigen, wenn überhaupt, so nur in geringem Grade empfindlicher als der normale.

p. 276. Kurz zusammengefaßt, ein Beweis für die Intervention sensibler Rezeptoren bei der Anaphylaxie sind die Versuche Dales nicht.

p. 180. Kurve 3 und 4 zeigen die Wirkung bei passiver Anaphylaxie gegen Menschenserum und gegen Hammelblutkörperchen.

p. 179. Die 2 ersten Kurven zeigen die typische anaphylaktische Reaktion des Darmes eines aktiv anaphylaktischen Meerschweinchens etc. . .

p. 183. Meine Resultate sind neue Beweise für die Ansicht, daß die anaphylaktische Reaktion zum mindesten nicht ausschließlich im Blute vor sich geht, sondern daß diese auch in einem Vorgang in den Zellen besteht im Sinne von Doerr.

Betreffs der Literatur wies ich hin auf R. Doerr, in Kolle-Wassermann, Handb. der pathogenen Mikroorganismen, Bd. 2, und R. Doerr, in Ergebn. der Immunitätsforschung usw., Bd. 1, 1914, in welchem die Arbeit von Friedberger und Kumagai im Literaturverzeichnis erwähnt ist.

(G. C.)

**Schlußwort zu den vorausgehenden Ausführungen von
Dr. Rudolf Massini.**

Von **E. Friedberger.**

Ich betone noch einmal, daß die ersten Anaphylaxieversuche am isolierten Darm von mir und Kumagai¹⁾ ausgeführt worden sind. Unsere Versuche erstreckten sich damals auch bereits auf den Darm anaphylaktischer Tiere. Dies, entsprechend den bei wissenschaftlichen Publikationen üblichen Gepflogenheiten, zu erwähnen, hat Massini unterlassen und dadurch den Eindruck erweckt, als ob seine Darmversuche die ersten waren. Eine gewisse Einwirkung auf den anaphylaktischen Darm haben auch wir gesehen, und darin hat uns also Massini bestätigt.

Die Anführung einiger, aus dem Zusammenhang gerissener Zitate besagt hier gar nichts. Wir verweisen auf unsere Originalarbeit.

Allerdings sind wir in der Deutung unserer Resultate wesentlich zurückhaltender gewesen, was wohl nur die Billigung kritischer Beurteiler finden wird. Eine gleiche Zurückhaltung wäre in den Versuchen Massinis um so angebrachter gewesen, als seine Technik der Darmversuche höchst anfechtbar ist.

In den von ihm publizierten Kurven läßt sich eine Registrierung der Darmperistaltik meistens überhaupt nicht erkennen, sondern nur eine geringe Tonussteigerung bei gewissen Zusätzen, die aber, mangels genügender Kontrollen, keineswegs eindeutig ist.

Was dann den vierten Schlußsatz des Autors in seiner strittigen Arbeit anlangt, „daß β -Imidazolyläthylamin mit dem anaphylaktischen Reaktionskörper nicht identisch ist“, so ist auch das nur eine glatte Bestätigung dessen, was ich bereits 1912²⁾ mit A. Moreschi einwandsfrei festgestellt habe. Auch hier also behauptet der Autor bereits festgestellte Tatsachen als neu unter völliger Nichtachtung älterer Ergebnisse. (G. C.)

1) Mikrobiologentag 1912, Centralbl. f. Bakt., Abt. 1, Ref., Bd. 51, Beih. p. 40; ferner diese Zeitschr., Bd. 22, 1914, p. 269.

2) Berl. klin. Wochenschr., 1912, No. 16.

Nachdruck verboten.

[Aus dem k. u. k. bakteriologischen Feldlaboratorium No. 38
der Salubritätskommission No. 5 (Präses: Stabsarzt Dozent Dr.
V. K. Ruß).]

Eine physiologische Erklärung der Agglutination.

Von Prof. Dr. G. Mansfeld.

Mit 7 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 30. September 1917.)

Die vielfachen Bemühungen verflossener Jahrzehnte, die Immunitätsreaktionen chemisch aufzuklären, führten bisher zu keinem befriedigenden Resultat. Jener Umstand, daß diese Reaktionen — ähnlich den chemischen — vielfach in vitro, also auch außerhalb des Tierkörpers ablaufen, verleitete die Mehrzahl der Forscher, nach der chemischen Natur jener geheimnisvollen Stoffe zu fahnden, bevor ihre Bildungsweise und die Art und Weise ihrer Wirkung genügend erkannt wurde. Vielfach wurde eine chemische Reindarstellung der Immunkörper angestrebt, ohne zu wissen, ob nach dem heutigen Stand chemischer Forschung dies überhaupt prinzipiell möglich sei. Das Höchste, was erzielt werden konnte, waren auch nur Analogien, d. h. die Nachahmung von Immunitätsreaktionen mit bekannten chemischen Mitteln. Die merkwürdige Erscheinung, daß gerade jenes Wissensgebiet, welches die größten praktischen Erfolge erzielte, an befriedigenden Erklärungen am ärmsten geblieben, scheint mir darin ihre Ursache zu finden, daß der biologische Faktor, die Bildungsstätte aller Immunkörper, zu wenig in Rechnung gezogen wurde. Einer erfolgreichen chemischen Forschung auf diesem Gebiete muß aber meines Erachtens eine experimentelle vorangehen.

Im folgenden wurde der Versuch gemacht, die physiologische Erklärung einer der wichtigsten Immunitätsreaktionen — des Phänomens der Agglutination zu geben, d. h. die Agglu-

tion auf bekannte biologisch-chemische Prozesse zurückzuführen.

Die bisherigen Theorien geben keine befriedigende Erklärung für das Phänomen der Agglutination. Sie begnügen sich entweder mit einer Umschreibung der beobachteten Tatsachen, oder aber beschränken sie sich, wie z. B. diejenige von Bordet, auf Analogien aus der Kolloidchemie über Ausflockung von Kolloiden, welche jedoch den wesentlichsten Punkt, die Spezifität, nicht berücksichtigen.

Wenn wir unvoreingenommen das Phänomen der Agglutination betrachten und nach dessen Ursachen fragen, so müssen wir zunächst jene Frage beantworten, warum die meisten Bakterien in Wasser und Salzlösungen eine dauernde Emulsion bilden. Hierauf gibt uns die kolloidchemische Forschung befriedigende Antwort. Wie bei allen organisierten Suspensionen müssen wir auch hier das Vorhandensein eines Schutzkolloids annehmen, die sogenannte genuine Eiweißhülle der Bakterien, welche entsprechend den Gesetzen der Oberflächenspannung zum größeren Teil an den Bakterienleibern haftet, zum kleineren Teil im Dispersionsmittel (Wasser, Salzlösung) kolloidal gelöst ist. Die grundlegenden Untersuchungen von Abderhalden und seiner Mitarbeiter haben uns nun gezeigt, daß der tierische Organismus befähigt ist, gegen — ihm parenteral beigebrachte — Kolloide diese spezifisch abbauenden Abwehrfermente zu bilden. Die Möglichkeit ist nicht von der Hand zu weisen und scheint einer experimentellen Prüfung wert, daß nach Injektion von Bakteriensuspensionen oder deren Filtraten im Organismus Abwehrfermente gebildet werden, welche die Fähigkeit haben, das Schutzkolloid der Bakterien fermentativ abzubauen, was selbstverständlich eine Zusammenballung der Bakterien zur Folge haben muß. Die Hypothese, wonach das Agglutinin nichts weiter als ein gegen das Schutzkolloid der Bakterien gerichtetes Abwehrferment sei, soll im folgenden einer Prüfung unterzogen werden.

I. Untersuchung, ob die Hypothese mit bekannten Tatsachen im Einklang steht.

Bevor wir an die Mitteilung jener Versuche herangehen, welche den Zweck hatten, die Reaktionskinetik der Agglu-

tion festzustellen und mit jener von Fermentreaktionen zu vergleichen, möge kurz besprochen werden, ob nach dem, was uns aus früheren Untersuchungen in bezug auf die Agglutination bekannt ist, eine Wahrscheinlichkeit besteht, daß das Agglutinin eine fermentartige Wirkung entfaltet.

1) Als eine Fundamenteigenschaft der Fermente gilt allgemein, daß das Ferment in keiner stöchiometrisch-äquivalenten Mengenbeziehung zum Substrate steht, daß also eine geringe Menge des Ferments große Mengen des Substrates umzuwandeln vermag. Es braucht wohl nicht erst besonders bewiesen zu werden, daß das Agglutinin (oft noch in einer Serumverdünnung von 1:60 000 wirksam) diese charakteristische Eigenschaft der Fermente teilt.

2) Eine weitere Eigenschaft der Fermente ist, daß nach Abschluß der Reaktion kein wirklicher Verlust an Ferment nachzuweisen ist, daß jedoch fast immer — nach den Untersuchungen von Bayliss¹⁾ sogar stets — eine Bindung, wahrscheinlich Adsorption von Ferment an Substrat stattfindet. In bezug auf die Agglutination wissen wir, daß das Agglutinin, mit homologen Bakterien zusammengebracht, an diese gebunden wird, durch geeignete Behandlung der Bakterien jedoch wieder freigemacht werden kann.

3) In bezug auf den Einfluß der Temperatur ist es eine alte Erfahrungstatsache, daß die Agglutination ähnlich den Fermentreaktionen ein zwischen 30—50° C liegendes Optimum besitzt, also auch diesbezüglich scheint eine Analogie zwischen Fermentreaktion und Agglutination zu bestehen.

4) Wir wissen, daß eine Grundbedingung der Agglutination die Anwesenheit von Salzen ist [Joos²⁾, Friedberger³⁾], eine Bedingung, welche bei vielen Fermentreaktionen ebenfalls erfüllt sein muß, wenn wir eine Wirkung erwünschen. So sei an die absolute Abhängigkeit der Wirkung der Koagulasen von der Gegenwart von Salzen und an die Notwendigkeit des Cl-Ions für die Diastasewirkung von Speichel und Leber erinnert.

5) Eine oft beobachtete Erscheinung bei der Agglutination

1) Das Wesen der Enzymwirkungen, Dresden 1910.

2) Zeitschr. f. Hyg., 1902.

3) Centralbl. f. Bakt., Bd. 30, 31.

ist, daß sehr konzentrierte Sera weniger stark wirken als verdünnte. Aus den Untersuchungen an Fermenten ist dieses Phänomen wohlbekannt und wird als Selbsthemmung bezeichnet. So zeigt z. B. fermentreicher Magensaft oder gesättigte PepsinaseLösung erst bei Verdünnung auf das 2- bis 8-fache das Maximum der Wirkung¹⁾).

6) In Bezug auf die leider noch mangelhafte chemische Charakterisierung der Agglutinine scheint es erwiesen zu sein, daß sie aus einer Haftgruppe und einer Wirkungsgruppe bestehen und zahlreiche Beobachtungen, namentlich die Untersuchungen von Bayliss²⁾ weisen darauf hin, daß das aktive Ferment ebenfalls in zwei Anteile zerlegbar ist.

7) Schließlich sei darauf hingewiesen, daß Agglutinine so wenig wie Fermente trotz redlicher Mühe hervorragendster Forscher rein dargestellt werden konnten, eine für die Fermente leider schon charakteristisch gewordene Eigenschaft.

II. Beweise für den fermentativen Charakter der Agglutinationsreaktion.

Im vorgehenden wurde in aller Kürze gezeigt, daß die wesentlichsten Eigenschaften der Agglutinine mit jenen der Fermente sich decken, daß also die aufgestellte Hypothese mit bekannten Tatsachen keineswegs im Widerspruch steht, folglich einer experimentellen Prüfung wert erscheint. Dies soll im folgenden ausgeführt werden.

Es mußte vor allem untersucht werden, ob die Reaktionskinetik der Agglutination der Kinetik einer Fermentreaktion gleicht. Die Beantwortung dieser Frage erforderte Untersuchungen über die Beziehung von Agglutininmenge und Umsatzgröße in der Zeiteinheit — d. h. Reaktionsgeschwindigkeit. An diese Untersuchungen schloß sich die Bestimmung des Temperaturkoeffizienten der Agglutination. Bevor wir die Versuche mitteilen, soll kurz deren Methodik beschrieben werden.

Bei all diesen Versuchen handelte es sich um die Bestimmung von Reaktionsgeschwindigkeit, und hierbei mußte selbstverständlich jenes (übrigens stets zweckmäßigere) Prinzip verfolgt werden, als Vergleichsbasis die Zeiten zu wählen, in

1) v. Tschermak, Allg. Physiologie, Bd. 1, p. 261.

2) Arch. d. Sciences biologiques, T. 11 (1904).

denen die gleichen Aenderungen hervorgebracht werden, d. h. in welchen die Agglutination bis zu einem bestimmten Punkt abgelaufen war. Im Verlaufe der Versuche stellte es sich heraus, daß es nicht zweckmäßig ist, bloß einen einzigen Zeitpunkt festzustellen, z. B. denjenigen, bei welchem die Agglutination beendet ist. Dies kann leicht zu Irrtümern führen. Nach einiger Uebung gelingt es unschwer, im Verlaufe der Agglutination 4 Zeitpunkte festzustellen, und zwar denjenigen, bei welchem die Agglutination gerade beginnt (\pm), dann jenen Zeitpunkt bei welchem die Agglutination noch undeutlich ist (+), dann jenen, in welchem sie sehr deutlich zutage tritt ($++$), und schließlich das Auftreten großer Flocken und die Aufhellung der Zwischenflüssigkeit ($+++$). Diese einzelnen Stadien der Agglutination lassen sich nach einiger Uebung mit einem Fehler von 1—2 Minuten feststellen, und wählt man die Versuchszeiten nicht zu kurz, so ist dies ein Fehler, der die Ergebnisse keineswegs beeinträchtigt.

Die Versuche müssen stets im Wasserbad bei konstanter Temperatur ausgeführt werden. Für jede Serumverdünnung müssen mehrere Proben im Wasserbad sein und diese miteinander gleichartige Resultate ergeben. Die Serumverdünnungen wurden stets mit der gleichen, genau kalibrierten Pipette ausgeführt.

Zur Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeit unter wechselnden Bedingungen wurden insgesamt 32 Versuche ausgeführt, welche die Frage eindeutig entschieden haben. Von diesen sollen einige wohlgelungene im folgenden mitgeteilt werden.

A. Beziehungen zwischen Agglutininkonzentration und Reaktionsgeschwindigkeit.

Versuch XVIII. 30. VII. 1916.

Paratyphus B-Serum. Titer: 1:20 000.

Serumverdünnung	Zeit der beginnend. Agglutination	Zeit der deutlichen Agglutination	Zeit der vollendeten Agglutination
1:2000	5'	9'	12'
1:4000	9'	16'	22'
1:6000	12'	25'	30'
1:8000	16'	33'	39'
1:10 000	—	40'	49'
1:12 000	26'	57'	65'

Versuch XXIV. 10. VIII. 1916.
Paratyphus B-Serum. Titer: 40000.

Serum- verdünnung	Zeit der beginnend. Agglutination	Zeit der deutlichen Agglutination	Zeit der vollendeten Agglutination
1:1000	2,5'	4'	5'
1:2000	4'	7'	9'
1:4000	6'	—	—
1:8000	11'	13'	19'
1:16 000	22'	26'	36'
1:32 000	49'	60'	73'

Versuch XXXI. 27. VII. 1917.
Paratyphus B-Serum. Titer: 1:8000.

Serum- verdünnung	Zeit der beginnenden Agglutination	Zeit der undeutlichen Agglutination	Zeit der deutlichen Agglutination	Zeit der beendeten Agglutination
1:1000	2'	3'	5'	6,5'
1:2000	4'	7'	9'	12'
1:4000	9'	12'	14'	23'
1:8000	16'	22'	28'	44'

Versuch XXXII. 28. VII. 1917.
Paratyphus B-Serum. Titer: 1:8000.

Serum- verdünnung	Zeit der beginnenden Agglutination	Zeit der undeutlichen Agglutination	Zeit der deutlichen Agglutination	Zeit der beendeten Agglutination
1:2000	6'	10'	13,5'	16'
1:4000	13'	19,5'	25'	33'
1:8000	26'	43'	53'	67'

Um das Ergebnis dieser Versuchsreihe verwerten zu können, müssen wir kurz jene Gesetzmäßigkeiten besprechen, welche für die Wirkung der Fermente Gültigkeit haben. Im allgemeinen ist bekanntlich das Verhältnis zwischen einer gewissen Potenz der Fermentkonzentration (F) und der Wirkungsgröße (W) gleich einer Konstanten (K):

$$\frac{F^n}{W} = K, \text{ oder } W = \frac{1}{K} F^n.$$

Die bei verschiedenen Fermentkonzentrationen beobachteten Umsätze verhalten sich also wie die relativen Fermentmengen in gewisser Potenz:

$$W_1 : W_2 = F_1^n : F_2^n.$$

Die Fermentkonzentration und die Einwirkungsdauer stehen bei gleicher Umsatzgröße und gleicher Substratmenge in jedem Falle in einfachem und umgekehrtem Verhältnisse, d. h. gleiche Wirkungen werden erzielt, wenn Fermentkonzentration und Einwirkungsdauer sich umgekehrt ändern, d. h. wenn W gleich bleibt, so ist $F \cdot T = K$. Wenn wir nun statt der Umsatzgröße (W) die Reaktionsgeschwindigkeit v setzen, (d. h. den reziproken Wert der Vollendungszeit $= t$), so gewinnen die Formeln folgende Gestalt: $\frac{F^n}{v} = K$ oder $\frac{1}{K} \cdot F^n = v$, bzw. $F^n \cdot t = K$, $F_1^n : F_2^n = v_1 : v_2 = t_2 : t_1$.

Was nun den Potenzwert von F betrifft, so haben die Untersuchungen der letzten Jahre gezeigt, daß derselbe keineswegs charakteristisch für ein oder das andere Ferment ist, sondern lediglich von den äußeren Bedingungen abhängt, wahrscheinlich von der $[H]$ -Konzentration. Der einfachste Fall einer gesetzmäßigen Beziehung von Fermentkonzentration und Umsatzgröße resp. Reaktionsgeschwindigkeit besteht beim Potenzwert 1, also in Form direkter einfacher Proportionalität, darstellbar durch eine Gerade. Diese einfache Beziehung scheint nun für eine ganze Reihe von Fermenten nachgewiesen zu sein, so für Kälberlab, Hefezymase, Speichelamylase, Urease, Erepsin und, falls die Reaktion nicht zu weit fortgeschritten, auch für Trypsin.

Um die geschilderte Gesetzmäßigkeit bei der Agglutination zu prüfen, waren wir natürlich nicht in der Lage, die Menge der entstandenen Reaktionsprodukte zu bestimmen; es gelang aber mit für unsere Frage genügender Genauigkeit jene Zeit zu bestimmen, in welcher bei gegebener relativer Agglutinin-konzentration die Reaktion bis zu einem gewissen Punkt abgelaufen ist¹⁾. Wir bestimmten also die Vollendungszeiten resp. deren reziproken Wert, die Reaktionsgeschwindigkeit. Wenn wir nun aus unseren Versuchsergebnissen aus der Formel $\frac{F^n}{v} = K$ den Wert K unter der Voraussetzung, daß der Potenzwert $n = 1$ ist, berechnen, so sehen wir in der

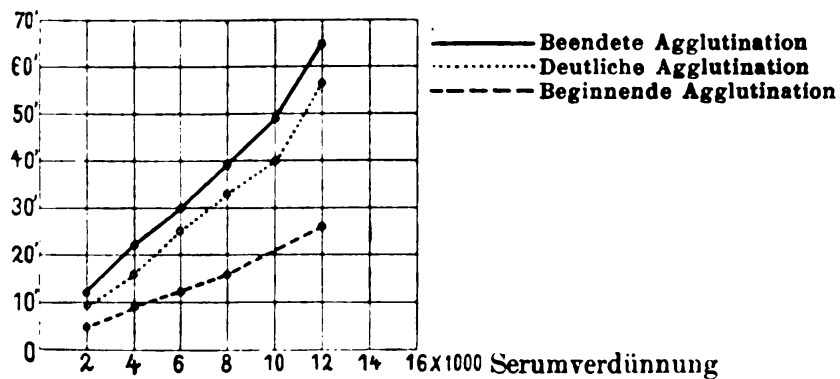
1) Voraussetzung für die Vergleichbarkeit ist, daß in allen Proben eines Versuches bis auf die Agglutinin-konzentration sich nichts ändert, namentlich mußte in den Versuchen außer der Konstanz der Temperatur für Gleichheit der Substratkonzentration Sorge getragen werden.

Tat, daß der Bruch $\frac{F^n}{v}$ eine konstante Größe darstellt. Einige Beispiele sind dafür im folgenden zusammengestellt.

Versuch XVIII			Versuch XXI			Versuch XXII			
$\frac{F}{v} = K$			$\frac{F}{v} = K$			$\frac{F}{v} = K$			
0,40	0,22	0,16	0,50	0,33	0,20	0,33	0,20	0,15	0,12
0,44	0,25	0,18	0,50	0,28	0,22	0,30	0,20	0,16	0,12
0,50	0,24	0,20	0,44	0,33	0,28	0,30	0,18	0,15	0,12
0,50	0,24	0,20	0,50	0,36	0,28				
0,46	0,25	0,20							
	0,21	0,18							

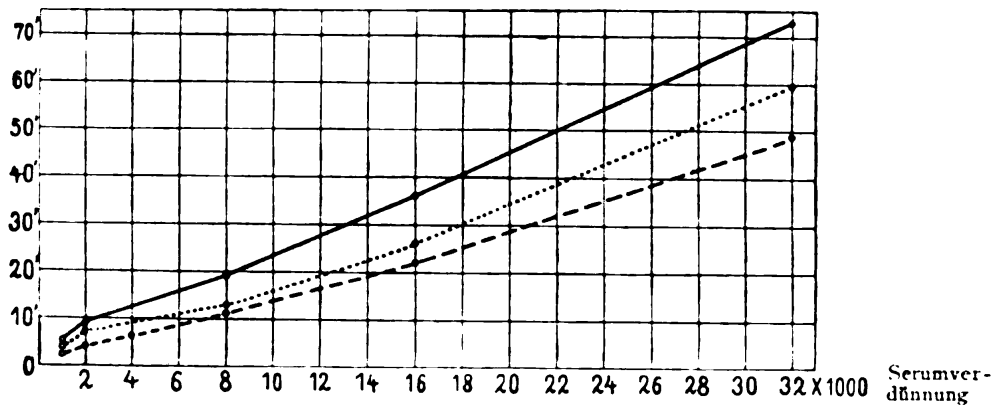
Wir sehen also, daß zwischen Agglutininkonzentration und Umsatzgeschwindigkeit einfache direkte, sogenannte lineare Proportionalität besteht, genau so, wie es für eine Reihe von Fermenten festgestellt worden ist. Am schönsten ersehen wir diese Proportionalität aus den Kurven 1—4, welche nach unseren Versuchen konstruiert wurden.

Versuch XVIII.



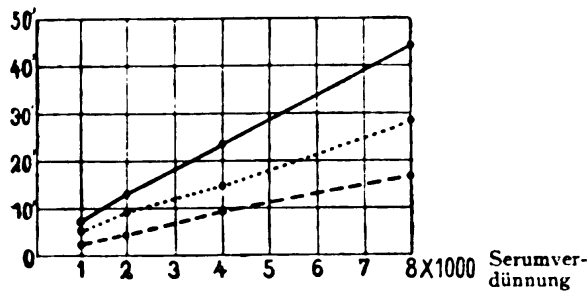
Kurve 1.

Versuch XXIV.



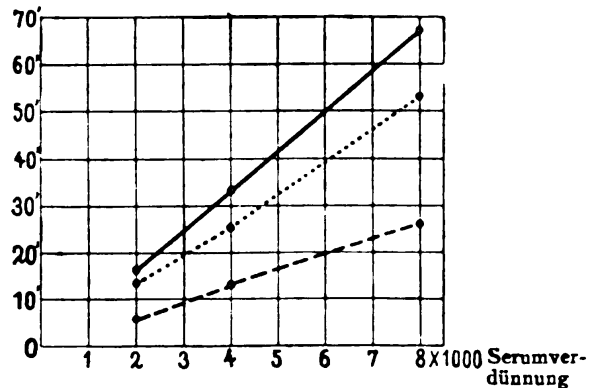
Kurve 2.

Versuch XXXI.



Kurve 3.

Versuch XXXII.



Kurve 4.

B. Reaktionsgeschwindigkeit der Agglutination bei verschiedenen Temperaturen.

Es ist bekannt, daß Fermentreaktionen das Phänomen des Temperaturoptimums zeigen. Das Gesetz von van t'Hoff, wonach chemische Reaktionen durch Temperaturanstieg derart beschleunigt werden, daß einer Erhöhung von 10°C eine Geschwindigkeitszunahme auf das 2- bis 3-fache entspricht, hat bekanntlich für Enzyme nur eingeschränkte Gültigkeit. Von einer gewissen Temperatur angefangen, bewirkt Temperatursteigerung Verlangsamung der Reaktion. Dieses Phänomen des Temperaturoptimums ist einer der wichtigsten Charakterzüge aller organischen Enzyme, und so schien es für unsere Frage von besonderer Wichtigkeit, die Reaktionsgeschwindigkeit der Agglutination bei verschiedenen Temperaturen festzustellen.

Versuch XXIII. 25. VII. 1916.

Paratyphus B-Serum 1:20 000. Titer: 1:20 000.

30° C	35° C	40° C	45° C	48° C	50° C
—	25' ±	14' ±	14' ±	25' ±	35' ±
48' +	35' +	25' +	25' +	30' +	45' +
58' ++	43' ++	30' ++	30' ++	43' ++	56' ++
68' +++	50' +++	35' +++	35' +++	50' +++	70' +++

Versuch XXIX. 16. XII. 1916.

Paratyphus B-Serum. Verdünnung: 1:10 000. Titer: 1:20 000.

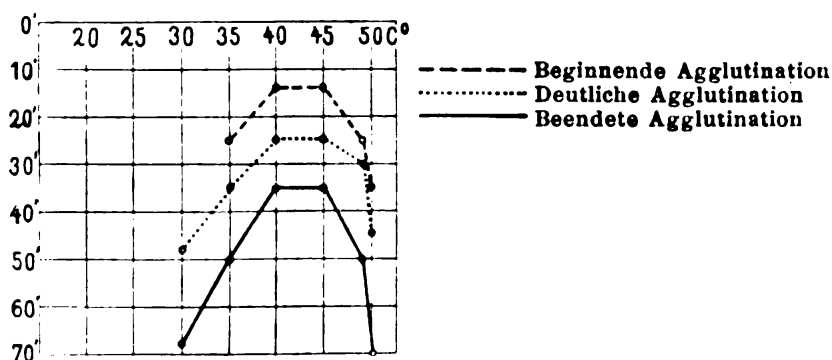
30° C	35° C	40° C	43° C	45° C	48° C
23' ±	14' ±	8' ±	10' ±	12' ±	21' ±
32' +	29' +	14' +	19' +	18' +	32' +
34' ++	33' ++	16' ++	23' ++	23' ++	38' ++
40' +++	35' +++	20' +++	27' +++	26' +++	44' +++

Versuch XXX. 20. XII. 1916.
Paratyphus B-Serum 1:10000. Titer: 1:20000.

35° C	40° C	45° C	48° C	50° C
—	10' ±	16' ±	23' ±	25' ±
28' +	14' +	30' +	34' +	36' +
29' ++	17' ++	35' ++	38' ++	42' ++
33' +++	20' +++	39' +++	40' +++	47' +++

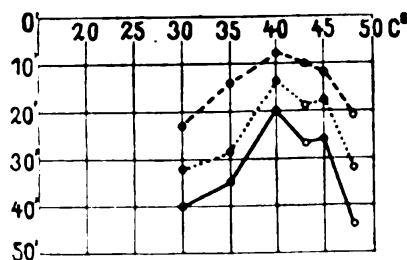
Wir sehen aus allen 3 Versuchen sehr deutlich, daß die Reaktionsgeschwindigkeit der Agglutination ihr Optimum bei einer Temperatur von 40° C erreicht. In den Versuchen XXIX und XXX war schon bei 43 resp. 45° C eine deutliche Verzögerung zu beobachten, und bei 48° C stieg in allen Versuchen die Reaktionszeit über das Doppelte. Die Temperaturkurven der Agglutination (s. Kurve 5—7) zeigen dem-

Versuch XXIII.



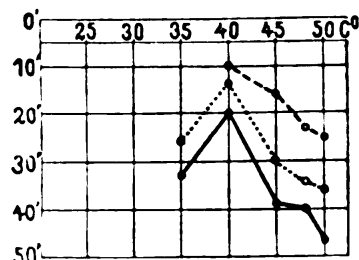
Kurve 5.

Versuch XXIX.



Kurve 6.

Versuch XXX.



Kurve 7.

entsprechend einen für Fermentreaktionen charakteristischen Gipfel, ihr Verlauf ist mit irgendeiner Fermentreaktion gerade zu identisch.

III. Nachweis von Abwehrferment in agglutinierenden Sera.

Im Vorgehenden wurden zwei Wahrscheinlichkeitsbeweise für unsere Hypothese beigebracht; es mußte weiterhin der Beweis erbracht werden, daß Eiweiß — dargestellt aus der Emulsion von Bakterien — durch homologes Immunserum und nur durch solches fermentativ abgebaut wird. Die *Abderhaldensche* Dialysiermethode schien für diesen Zweck nicht besonders geeignet, da die Darstellung von großen Mengen *Bacilleneiweiß* mit Schwierigkeiten verbunden ist. Durch glücklichen Zufall konnte ich aber einem Vortrag *Fritz Pregls* in Graz beiwohnen, in welchem er eine neue Methode zum Nachweis von Abwehrfermenten demonstrierte. Diese Methode, welche ich vor ihrer Publikation mit freundlicher Erlaubnis des Herrn Prof. *Fritz Pregl* bei meinen Versuchen anwenden durfte, ist so einfach und genau, daß ich die Ueberzeugung habe, daß durch sie die grundlegende Entdeckung *Abderhaldens* erst zum Gemeingut medizinischer Forschung und klinischer Untersuchung werden wird. Das Prinzip der Methode ist folgende:

Wenn wir ein in Wasser resp. Serum völlig unlösliches, gequollenes Eiweiß mit unwirksamem Serum zusammenbringen, so erfolgt selbstverständlich keinerlei Aenderung in der Konzentration des Serums. Fand aber ein Abbau des Substrates statt, so werden die Abbauprodukte des Eiweißes in Lösung gehen und eine Aenderung der Konzentration bewirken, welche selbst in einem einzigen Tropfen Serum durch den *Zeißschen* Eintauchrefraktometer nachweisbar ist. Die Methode ist als Mikromethode zu betrachten, denn 0,2—0,3 ccm Serum und einige Milligramme des Substrates genügen, um den Nachweis von Abwehrfermenten zu führen.

Die einzige Anforderung an das Substrat ist, daß es in Wasser selbst bei Siedehitze keine Spur von löslichen Substanzen abgibt. Hat man ein solches Substrat in getrocknetem Zustand bereit, so wird in folgender Weise vorgegangen: Einige Milligramm werden davon in ein unten zugeschmolzenes Röhrchen gebracht und mit siedender physiologischer Kochsalzlösung übergossen und 1—2 Stunden stehen gelassen. Dadurch wird die Quellung des Substrates bewirkt, ein sehr wichtiger Punkt, denn falls man dies unterläßt, so quillt das Substrat auf Kosten des Serums, wodurch eine Eindickung desselben

eintritt, was einen Abbau vortäuschen kann. Nach beendeter Quellung wird der größte Teil der Kochsalzlösung mittels Kapillare abgesogen, einige Tropfen des zu prüfenden Serums in das Röhrchen gebracht, ein kleiner Thymolkristall hinzugefügt, mit einem Gummistöpsel das Röhrchen verschlossen und unter häufigem Schütteln (Lösung von Thymol) 15 bis 20 Minuten stehen gelassen. Nach dieser Zeit wird mit einer Kapillare aus dem Serum ein Tropfen auf das Preglsche Prisma des Eintauchrefraktometers gebracht, und seine Refraktion bei genau bekannter Temperatur bestimmt. Das Röhrchen bleibt, gut verschlossen, 24 Stunden stehen. Am nächsten Tag wird die Refraktion des Serums in gleicher Weise bei derselben Temperatur bestimmt. Als Kontrolle dient ein Blindversuch mit demselben Substrat, aber einem sicher inaktiven oder inaktivierten Serum, welches natürlich keine nennenswerte Aenderung der Refraktion zeigen darf. Der Grad des Abbaues wird nach Pregl durch die Aenderung der 5. Dezimale des Brechungsindex ausgedrückt.

Das für meine Versuche notwendige Substrat war das Eiweiß einer Bakterienemulsion. Auch für dieses verwendete ich Paratyphus B-Bacillen. Die Emulsionen wurden von vielen Schrägagarkulturen in gewohnter Weise mit Kochsalzlösung hergestellt und dann mit Essigsäure bei Siedehitze koaguliert. Der Niederschlag wurde je 5 Minuten mit absolutem Alkohol, Alkohol-Aether $\bar{a}\bar{a}$ und mit Aether geschüttelt, und der von Lipoiden befreite trockene Niederschlag so lange mit Wasser ausgekocht, bis das Filtrat keine Spur von Eiweißreaktion ergab. Das so gewonnene Koagulum wurde wieder mit Alkohol, Alkohol-Aether und Aether geschüttelt, getrocknet und steril aufbewahrt. Zu jedem Versuch wurde ein Kontrollversuch mit Dysenterie oder Choleraserum in Gang gesetzt.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind im folgenden mitgeteilt.

Tabelle I.

No. des Vers.	Hauptversuch mit Paratyphus B Serum (T = 1:20000)			Kontrollversuch mit Cholera- oder Dysenterieserum		
	Refraktion		Abbau	Refraktion		Abbau
	vorher	nachher		vorher	nachher	
1	1,34954	1,35006	52	1,35145	1,35147	2
2	1,35001	1,35025	24	1,35106	1,35109	3
3 ¹⁾	1,33621	1,33644	23	1,33660	1,33661	1
4	1,34889	1,34913	24	1,35102	1,35106	4
5	1,34947	1,34966	18	—	—	

1) Sera 1:10 verdünnt.

Wir sehen aus diesen Versuchen, daß im Hauptversuch stets ein beträchtlicher Abbau des Bakterieneiweißes erfolgte, während Cholera- und Dysenterieserum gegenüber dem Eiweiß von Paratyphusbacillen sich völlig unwirksam erwiesen.

Diese Versuche sind aber noch keineswegs geeignet, die Richtigkeit unserer Hypothese zu beweisen, denn sie zeigen ja nur, daß nach parenteraler Zufuhr einer Bakterienemulsion im Blutserum des Tieres Fermente vorhanden sind, welche das Eiweiß jener Bakterien abbauen, welche dem Tier einverleibt worden sind. Wir erfahren aber noch nichts darüber, ob das abgebaute Eiweiß auch wirklich jenes gelöste Eiweiß ist, welches wir als Schutzkolloid angesprochen haben. Das zu unseren Versuchen verwendete Eiweißpräparat ist ja ein Gemisch sämtlicher Eiweißstoffe einer Paratyphusaufschwemmung. Um den Nachweis zu führen, daß im agglutinierenden Serum tatsächlich ein gegen das Schutzkolloid gerichtetes Abwehrferment vorhanden ist, mußte noch geprüft werden, ob unser Eiweißpräparat auch durch das Serum solcher Tiere abgebaut wird, welche nicht mit einer Bakterienemulsion, sondern nur mit dem gelösten Eiweiß derselben (dem Schutzkolloid) geimpft worden sind.

Um diese Versuche auszuführen, wurde Kaninchen das Berkefeld-Filtrat einer Paratyphus B-Bacillenemulsion intravenös in Abständen von 2—3 Tagen so lange injiziert, bis das Serum einen genügend hohen Agglutinationstiter erreichte.

Die in Tabelle II mitgeteilten Abbauversuche sind mit einem Serum vom Titer 1:8000 ausgeführt. Das betreffende Kaninchen erhielt innerhalb 20 Tagen 9 ccm des Filtrates.

Tabelle II.

No.	Refraktion		Abbau
	vorher	nachher	
6	1,34724	1,34743	19
7	1,34766	1,34789	23
8	1,34683	1,34694	11
9	1,34590	1,34599	9

Nachdem diese Versuche den Beweis liefern, daß ein nach parenteraler Zufuhr des Schutzkolloids gewonnenes Serum nicht nur, wie schon bekannt war, agglutinierende Eigenschaften

zeigt, sondern auch fähig ist, das Eiweiß homologer Bakterien abzubauen, so glauben wir, in Anbetracht der Spezifität der Abwehrfermente mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen zu dürfen, daß das entstandene Abwehrferment gegen jenes gelöste Bakterieneiweiß gerichtet ist, welches wir dem Tier einverleibt haben.

Die Erkenntnis jener Tatsache, daß gleichzeitig mit dem Erscheinen der Agglutinine im Serum daselbst Abwehrfermente wirksam werden, welche mit größter Wahrscheinlichkeit jenen Eiweißstoff der homologen Bakterien abzubauen imstande sind, welcher von den Bakterienleibern losgelöst ist, als Schutzkolloid also mindestens eine Rolle spielen könnte, ist eine mächtige Stütze für unsere Annahme, wonach das sogenannte Agglutinin ein Abwehrferment ist, welches das als Schutzkolloid wirksame Agglutinogen abzubauen vermag und dadurch ein Zusammenballen der Bakterien herbeiführt. Ist aber diese unsere Annahme richtig, so muß sie sich durch eine nach folgendem Gedankengang angeordnete Versuchsreihe eindeutig beweisen lassen:

Injizieren wir einem Kaninchen ein Bakterienfiltrat, so entwickelt sich in demselben nach unserer Annahme ein Abwehrferment, welches, mit einer homologen Bakterienemulsion zusammengebracht, das sogenannte Agglutinogen, nach unserer Benennung das Schutzkolloid, abbaut und dadurch die Agglutination herbeiführt. Falls dies richtig ist, so muß das Agglutinogen (Schutzkolloid) einer schon agglutinierten Bakterienemulsion bereits abgebaut — folglich, einem Tier injiziert, nicht mehr fähig sein, die Bildung von Abwehrferment (Agglutinin) zu veranlassen. Wenn wir also das Filtrat einer bereits agglutinierten Bakterienemulsion einem Tier verabreichen, so darf das Serum des so vorbehandelten Tieres die betreffenden Bakterien nicht oder nur in sehr geringem Grade¹⁾ agglutinieren.

1) Wir kennen keine Fermentreaktion, welche in einer Richtung völlig ablaufen würde, und so ist auch hier anzunehmen, daß der Abbau des Schutzkolloids bei der Agglutination bei einem gewissen Gleichgewichtszustand Halt macht, d. h. daß Spuren unveränderten Schutzkolloids noch im Filtrat verbleiben können, und so darf es nicht wundernehmen, falls eine geringe Agglutination mit dem so gewonnenen Serum zu erzielen ist.

Die folgenden Versuche beweisen die Richtigkeit unserer Annahme.

Versuch XLIII.

Die Aufschwemmung 24-stündiger Agarkulturen von Paratyphus B-Bacillen wird zunächst zentrifugiert und, nachdem der größte Teil der Bakterien entfernt wurde, durch ein Berkefeldfilter filtriert. Mit dem Filtrat wird ein Kaninchen, dessen Serum keine Spur von Agglutination gegenüber der Typhusgruppe zeigt, in folgender Weise intravenös geimpft:

- 26. IV. 1917: 0,5 ccm.
- 29. IV. „ 0,5 ccm. Widal: negativ.
- 1. V. „ 0,75 ccm.
- 2. V. „ Widal: 1:100 schwach +.
- 3. V. „ 1,25 ccm.
- 5. V. „ 2,0 ccm.
- 8. V. „ Widal: 1:2000 stark +, 1:4000 schwach +.
- 8. V. „ 2,0 ccm.
- 9. V. „ Widal: 1:4000 stark +.
- 16. V. „ 2,0 ccm.
- 19. V. „ Widal: 1:8000 stark positiv.

Versuch XLIV.

Die Aufschwemmung 24-stündiger Agarkulturen von Paratyphus B-Bacillen wird mit so viel Paratyphus B-Serum (Titer 1:10 000) versetzt, daß eine Serumverdünnung von 1:10 000 resultiert. Nach vollständiger Agglutination wird die ganze Flüssigkeit durch ein Berkefeldfilter filtriert, das Filtrat einem Kaninchen intravenös injiziert:

- 22. VII. 1917: Widal negativ.
- 22. VII. „ 0,5 ccm Filtrat.
- 24. VII. „ 0,5 „ „
- 25. VII. „ 0,5 „ „
- 27. VII. „ 1,0 „ „
- 30. VII. „ 1,0 „ „
- 31. VII. „ 1,0 „ „
- 1. VIII. „ 1,0 „ „
- 2. VIII. „ 1,0 „ „
- 4. VIII. „ Widal 1:100 stark +, 1:200 schwach +.
- 8. VIII. „ 1,0 ccm Filtrat.
- 9. VIII. „ 1,5 „ „
- 11. VIII. „ Widal 1:100 stark +, 1:200 schwach +.
- 14. VIII. „ Widal 1:100 stark +, 1:200 schwach +.
- 18. VIII. „ Widal 1:100 +, 1:200 negativ.

Der riesige Unterschied zwischen der Wirksamkeit beider Sera ist nicht zu verkennen und beweist wohl unzweideutig,

daß während der Agglutination das sogenannte Agglutinin zugrunde geht.

Zusammenfassung.

1) Es wird die Hypothese aufgestellt, daß die dauernde Emulsion von Bakterien durch ein Schutzkolloid bewirkt wird, das Agglutinin aber nichts weiter als ein gegen dieses Schutzkolloid gerichtetes Abwehrferment sei. Das Phänomen der Agglutination wäre also dem Wesen nach der fermentative Abbau des Schutzkolloids.

2) Es wird durch Messen der Reaktionsgeschwindigkeit der Agglutination gezeigt, daß zwischen Konzentration des Agglutinins und Reaktionsgeschwindigkeit direkte lineare Proportion besteht, genau so, wie es für eine ganze Reihe von Fermenten nachgewiesen wurde.

3) Es wird gezeigt, daß die Temperaturkurve der Agglutination völlig derjenigen gleicht, welche für alle Fermentreaktionen als charakteristisch erkannt wurde.

4) Durch eine neue, von Fritz Pregl ausgearbeitete Methode wird der direkte Nachweis geführt, daß agglutinierendes Serum ein Abwehrferment enthält, welches aus homologen Bacillenemulsionen dargestelltes Eiweiß abbaut, und daß das abgebaute Eiweiß der größten Wahrscheinlichkeit nach dasjenige ist, welches nach Aufschwemmen der Bakterien in der Kochsalzlösung kolloidal gelöst ist, also geeignet ist, die Rolle eines Schutzkolloids zu spielen.

5) Es wird schließlich bewiesen, daß das Filtrat einer vorher agglutinierten Bakterienemulsion (im Gegensatz zum Filtrat nicht vorbehandelter Bakterien) unfähig ist, Agglutinine zu bilden, daß also das Schutzkolloid (= Agglutinin) während der Agglutination in der Tat zugrunde geht. (G. C.)

Nachdruck verboten.

[Aus der Medizinischen Universitätsklinik des Bürgerspitals Basel
(Vorsteher: Prof. R. Staehelin).]

**Weitere Untersuchungen am anaphylaktischen Meer-
schweinchendarm (Doppelimmunisierungen).**

Von Privatdozent Dr. Rudolf Massini,
Sekundärarzt der Med. Klinik.

Mit 9 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 3. Oktober 1917.)

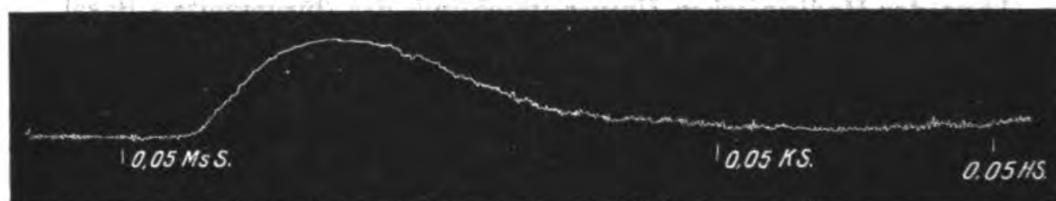
Die von mir in dieser Zeitschrift¹⁾ beschriebene Methode des Nachweises einer anaphylaktischen Reaktion am Meerschweinchendarm²⁾ läßt sich sehr gut verwenden, um Versuche mit Doppelimmunisierungen darzustellen. Die Resultate haben einige Wichtigkeit für Fragen auf dem Gebiete der Anaphylaxie. Diese Methode ist hier besonders von Wert, da man dabei am Darm des gleichen Tieres verschiedene Versuche anstellen kann, während bei der klassischen Methode das Tier im Shock zugrunde geht und daher für weitere Versuche in der Antianaphylaxie nicht mehr verwertbar ist, und antianaphylaktische Tiere nur erhalten werden, wenn subletale Dosen gegeben werden. Ich lasse zunächst die Versuche folgen mit den entsprechenden Kurven zur Illustration:

Kurve 1—4 zeigen, daß es gelingt, ein Meerschweinchen gegen drei Seren zu immunisieren. Auch bei gleicher Injektionsmenge wird die Immunisierung nicht gleich groß. Nach einer sehr starken Welle ist es nicht möglich, durch andere Seren eine Reaktion auszulösen (Kurve 1 und 3). Dies könnte den Anschein erwecken, als ob die Antianaphylaxie

1) Massini, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 25, 1916, p. 179.

2) Friedberger und Kumagai (diese Zeitschr., Bd. 22) kamen bei von ihnen angestellten Darmversuchen zu dem Schlusse, daß der Meerschweinchendarm nicht geeignet sei zu solchen Versuchen (s. meine Bemerkungen diese Zeitschr., Bd. 27, p. 194—196).

nicht spezifisch sei, indem ein Serum den Darm antianaphylaktisch macht gegen die zwei anderen. Bei kleineren Zusätzen dagegen zeigt sich, daß eine Antianaphylaxie nur auftritt gegen das betreffende Serum (Kurve 2 und 4). Allerdings nach zwei-



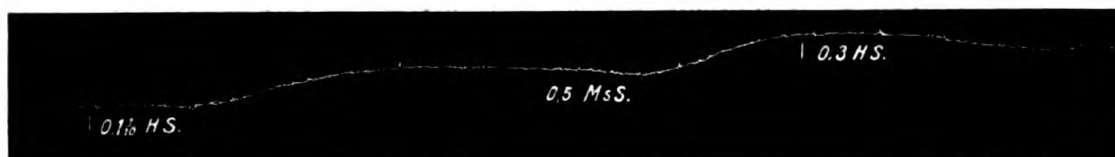
Kurve 1.



Kurve 2.



Kurve 3.



Kurve 4.

Kurve 1—4. Meerschweinchen No. V/90: sensibilisiert am 9. II. 1916 mit Hammelserum 2 ccm i.p.; am 19. II. 1916 mit Menschenserum 2 ccm i.p.; am 22. II. 1916 mit Kaninchenserum 1½ ccm i.p. Getötet am 15. V. 1916 durch Nackenschlag.

Abkürzungen: i.p. = intraperitoneal, HS. = Hammelserum, KS. = Kaninchenserum, MsS. = Menschenserum, PfS. = Pferdeserum.

maligem Reagieren ist der Darm ein drittes Mal nicht mehr reaktionsfähig. Bei mehrmaliger Reaktion muß das von Guggenheim¹⁾ für die Reaktion des Meerschweinchendarmes auf chemische Agentien, welche keine Anaphylaxie hervorrufen, aufgestellte Gesetz berücksichtigt werden. Guggenheim zeigte, daß der Meerschweinchendarm zum zweiten Male auf die gleiche Dose weniger reagiert als das erste Mal. Man muß daher die Versuche so anlegen, daß man von den Reagentien bei einem ersten Versuch das eine, bei einem zweiten das andere zuerst zugibt. Es zeigt sich dann, daß, wenn man die stärker wirkende Substanz zuerst gegeben hat, die schwächer wirkende Substanz an zweiter Stelle keine Reaktion oder nur eine sehr geringe hervorruft. Umgekehrt, wenn man die schwächer wirkende Substanz zuerst gibt, erhält man durch die an zweiter Stelle gegebene stärker wirkende Substanz noch eine Reaktion. Man darf auch umgekehrt eine Substanz, welche, bei einem Darmstück als zweite, nach einer Substanz, welche schon eine Reaktion hervorgerufen hat, zugefügt — noch eine Kontraktion des Darmes bewirkt, als die stärker wirksame Substanz ansehen. Eine anaphylaktische Reaktion bedeutet für den Darm eine Schädigung, durch die er einen Teil seiner Reaktionsfähigkeit verliert; je stärker die Reaktion, um so stärker die Abnahme der Reaktionsfähigkeit. Diese Abnahme ist nicht spezifisch. Da aber die anaphylaktische Reaktionsfähigkeit des Darmes, wie schon früher nachgewiesen²⁾, schon früher erlischt als die Reaktionsfähigkeit auf chemische Agentien, so zeigt sich die oben erwähnte nicht spezifische Abnahme der Reaktionsfähigkeit relativ leicht bei der Prüfung mittels der anaphylaktischen Reaktion beim Zusatz des zweiten oder dritten Antigens. Nicht zu verwechseln ist damit der spezifische Verlust der Reaktionsfähigkeit auf kleinste Mengen eines Antigens, sogar auf solche Mengen, welche noch gar keine Reaktion auslösen, also die echte Anti-anaphylaxie des Darmes.

Der Eintritt dieser echten Antianaphylaxie braucht, wie Versuche von Ban³⁾ zeigten, auch eine gewisse Zeit bis zum

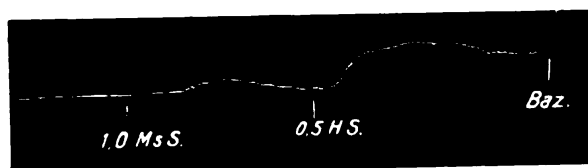
1) Marcus Guggenheim, *Therap. Monatsh.*, 19. Jahrg., Nov. 1915.

2) Massini, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, l. c.

3) Ban, I.-D. Basel, 1913.

Eintritt der Wirkung, so daß man, wenn man rasch hintereinander zuerst eine sehr kleine Dose, dann eine größere Dose vom gleichen Antigen gibt, durch die zweite Dose eine größere Reaktion erhält. Hier wird das Fehlen einer richtigen Antianaphylaxie vorgetäuscht. Durch Kontrollversuche, die bei den oben gezeigten Kurven stets angestellt wurden, werden solche Täuschungen vermieden.

Kurve 5 und 6 zeigen das gleiche wie Kurve 2 und 4 an einem gegen Menschenserum und Hammelserum immunisierten Darm. Wenn die Immunisierung nicht sehr stark ist, so darf eine ziemlich große Dose gegeben werden (1 ccm Menschenserum, Kurve 5), welche gegen das gleiche



Kurve 5.



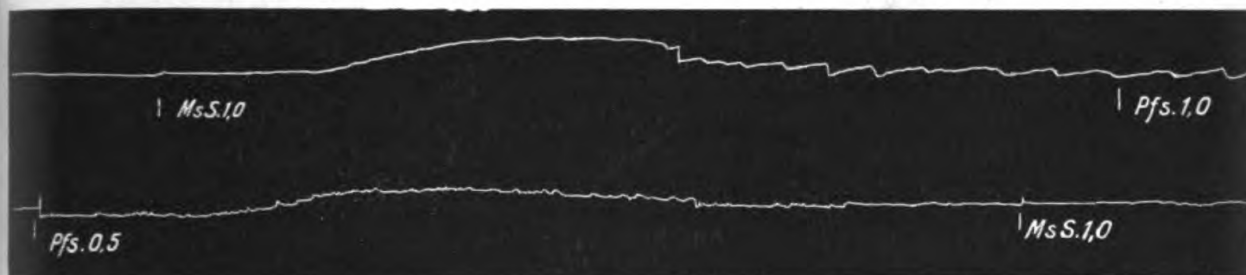
Kurve 6.

Kurve 5 und 6. Meerschweinchen No. VI/15: sensibilisiert am 26. VI. 1916 mit 1 ccm Hammelserum i.p.; am 4. VII. 1916 mit 1 ccm Menschenserum i.p. Getötet durch Verbluten am 8. VIII. 1916.

Antigen in kürzerer Zeit Antianaphylaxie bewirken würde. Die 6. Kurve zeigt, wie die gleiche Dose von 0,5 ccm Hammelblut stärker wirkt, wenn sie zu einem Darm gebracht wird, der noch nicht reagiert hat, als wenn der Darm schon einmal (wenn auch nicht spezifisch) reagiert hat. Zugleich demonstriert Kurve 6, daß die Antianaphylaxie gegen 0,5 ccm Hammelserum in kurzer Zeit eingetreten ist. Beide Darmstücke reagieren aber noch auf einen Bacillenextrakt. Man sieht nur den Beginn der aufsteigenden Kurve.

Die folgenden Kurven 7, 8 und 9 zeigen, daß, wenn man zur Auslösung der Reaktion ein Gemisch der beiden zur Sensibilisierung verwendeten Seren benützt, die Reaktion be-

deutend größer ausfällt, als wenn man die gleichen Mengen der einzelnen Seren zugibt.



Kurve 7.



Kurve 8.



Kurve 9.

Kurve 7—9. Meerschweinchen No. VI/68 II: sensibilisiert am 11. XI. 1916 mit Menschenserum 1 ccm i.p.; am 18. XI. 1916 mit Pferdeserum 1 ccm i.p.

Ich stellte weitere Versuche an, ob die Sensibilisierung durch ein Serum diejenige gegen ein anderes Eiweiß erschwert, und es scheint dies in der Tat der Fall zu sein. Meine Versuche sind aber noch nicht zahlreich genug, um dies schon als eine Gesetzmäßigkeit herauslesen zu können. Doerr¹⁾ spricht von Konkurrenz der Antigene.

Meine Befunde bestätigen durch eine neue Methode die Befunde anderer Autoren²⁻⁵⁾, daß die Antianaphylaxie ein

- 1) Doerr, Kolle-Wassermann, Bd. 2, 2. Aufl., p. 983.
- 2) Joachim, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 8.
- 3) Friedberger, Szymanowski, Kumagai, Odaira und Lurá, ebenda Bd. 14, p. 387.
- 4) Bächer und Wakushima, Centralbl. f. Bakt., Bd. 61.
- 5) Weil und Coca, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 17, p. 141.

spezifischer Vorgang sei. Dafür spricht, daß die Darmmuskulatur von gegen zwei oder drei Seren immunisierten Meerschweinchen noch im Zustand der Antianaphylaxie gegen ein Serum eine Reaktion gibt gegen ein anderes der zur Sensibilisierung verwendeten Sera.

Auch der durch Kurve 7—9 belegte Versuch, bei welchem ein Gemisch von zwei Antigenen beim doppelt immunisierten Meerschweinchen eine stärkere anaphylaktische Reaktion hervorruft als die einzelnen Seren, wenn sie in der gleichen Menge wie das Gemisch zugesetzt wurden, spricht für eine spezifische Wirkung. Die beiden Antigene greifen an verschiedenen Punkten an. Die Wirkung wird daher verdoppelt. Ein Antigen kann nur mit einer Art von Rezeptoren reagieren. Auf der anderen Seite läßt sich aber, wie dies schon von Friedberger, Szymanowski, Kumagai, Odaira und Lurá^{1) 2)}, Sachs³⁾ nachgewiesen worden ist, eine nichtspezifische Komponente nachweisen, und zwar je mehr ein Darm anaphylaktisch reagiert hat, desto weniger ist er fähig, dies noch zu tun.

Zusammenfassung.

1) Es lassen sich Meerschweinchen gegen zwei und drei Seren immunisieren. Der Darm derselben zeigt eine spezifische Reaktion mit spezifischer Antianaphylaxie.

2) Neben dieser spezifischen Antianaphylaxie läßt sich noch eine nichtspezifische nachweisen. (G. C.)

1) Kumagai und Odaira, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 14, p. 391.

2) Szymanowski, ebenda Bd. 14, p. 387.

3) Sachs, Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 50, 1911.

Nachdruck verboten.

[Aus der Dermatologischen Universitätsklinik zu Frankfurt a. M.
(Direktor: Geheimrat Prof. Dr. K. Herxheimer).]

Experimentelle Untersuchungen über das Wesen der Wassermannschen Reaktion.

Von Privatdozent Dr. Ernst Nathan.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. November 1917.)

A. Einleitung.

Die fortschreitende experimentelle Ergründung des Wesens der Wassermannschen Reaktion hat immer deutlicher gezeigt, daß es sich bei dem Komplementschwund, wie er durch das Zusammenwirken von syphilitischem Serum und Organextrakt vermittelt wird, nicht um eine Komplementbindung im ursprünglichen Sinn handelt, daß vielmehr eine antikomplementäre Wirkung vorliegt, die mit großer Wahrscheinlichkeit auf eine Veränderung der Globuline in dem Reaktionsgemisch im Sinne einer Dispersitätsvergrößerung zurückzuführen ist. Schon in der ersten Zeit nach der großen Entdeckung A. v. Wassermanns wiesen die Untersuchungen von Micheli und Borelli¹⁾, Landsteiner und Müller²⁾, Groß und Volk³⁾, Bauer und Hirsch⁴⁾, Elias, Neubauer, Porges und Salomon⁵⁾ u. a. darauf hin, daß das bei der Wassermannschen Reaktion wirksame Prinzip des Luesserums an die Globuline gebunden ist. Hinsichtlich dieser Feststellung war es nun

1) F. Micheli und L. Borelli, *Rivista critica di Clinica medica*, 1908, No. 19/20; vgl. auch *Giornale della R. Accad. di Med. di Torino*, 1908, No. 1/2 u. 3–5 (zit. nach Sachs und Altmann).

2) K. Landsteiner und R. Müller, *Wien. klin. Wochenschr.*, 1908, p. 1076.

3) S. Groß und R. Volk, *Wien. klin. Wochenschr.*, 1908, No. 18, p. 647.

4) R. Bauer und A. Hirsch, *Wien. klin. Wochenschr.*, 1910, No. 1, p. 6.

5) Elias, Neubauer, Porges und Salomon, *Wien. klin. Wochenschrift*, 1908, No. 21, p. 748.

bemerkenswert, daß auch die Globuline des normalen Serums, wofern sie durch bekannte chemisch-physikalische Methoden aus dem Serum isoliert werden, positive Wassermannsche Reaktion geben können, wie schon die ersten Mitteilungen von Landsteiner und Müller, Groß und Volk, insbesondere aber die schönen Untersuchungen von Friedemann¹⁾ sowie die, namentlich sich auf die physikalisch-chemische Seite der Frage erstreckenden Arbeiten von P. Schmidt²⁾ gezeigt haben. Jedoch unterscheidet sich die Wassermannsche Reaktion der Globuline des normalen Serums von derjenigen des Syphilisserums bzw. der aus dem letzteren gewonnenen Globuline in prinzipieller Weise durch ihre ausgesprochene Thermolabilität.

Diesem unterschiedlichen Verhalten der Globuline des normalen und des Syphilisserums entsprechen bis zu einem gewissen Grade auch die Eigenschaften des Gesamtserums. Wie zuerst Sachs und Altmann³⁾ gezeigt haben, ist nämlich die Wassermannsche Reaktion des aktiven Serums zwar in der Regel stärker als die des inaktiven Serums, sie besitzt jedoch nicht mehr, wie Sachs⁴⁾ beobachten konnte, das für Syphilis charakteristische Gepräge, das dem inaktiven Serum seine ausgesprochene Dignität zur Serodiagnostik der Syphilis verleiht. Man muß daher, wie ich schon hier hervorheben möchte, zwischen der eigentlichen Wassermannschen Syphilisreaktion, die an thermostabile Serumeigenschaften gebunden ist, und analogen Qualitäten des aktiven Serums unterscheiden, die zwar formal zu den gleichen Reaktionen führen, wie wir sie bei der Serodiagnostik der Syphilis nachweisen, die aber doch Schlußfolgerungen für die Beantwortung der wichtigsten Frage, welche Veränderungen im Serum bei Syphilis vorliegen, nicht unmittelbar erlauben. Ob die Unterschiede zwischen aktivem und inaktivem Serum auf einer verschiedenen Hydroxyl-Ionenkonzentration oder auf physikalisch-

1) U. Friedemann, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 67, 1910.

2) P. Schmidt, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 69, 1911.

3) H. Sachs und K. Altmann, Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 14.

4) H. Sachs, Deutsche Dermatol. Gesellschaft X. Kongr., 1908, p. 16.

chemischen Strukturdivergenzen der Eiweißkörper beruhen, möchte ich dabei zunächst dahingestellt sein lassen ¹⁾).

Zweifellos muß aber auch die Analyse derjenigen Faktoren, die im aktiven Serum zu einer positiven Wassermannschen Reaktion führen, nicht nur an und für sich, sondern auch indirekt in bezug auf die Erkenntnis der für Syphilis charakteristischen Serumveränderung von großem Interesse erscheinen. Es mußte daher von nicht geringer Bedeutung sein, wenn es gelang, aktive wassermannnegative Sera durch künstliche Eingriffe so zu verändern, daß sie zu einer positiven Wassermannschen Reaktion zu führen vermochten. In diesem Sinne mußten daher Mitteilungen von Hirschfeld und Klinger ²⁾ von großem Interesse erscheinen, nach denen es möglich ist, aktive Menschenserum durch Schütteln, sowie durch Einwirkung von salzarmen Medium, Agar, Stärke, Kaolin, Präzipitaten, Bakterien- und Blutkörperchenaufschwemmungen derart zu verändern, daß sie positive Wassermannsche Reaktion geben. Wenn man berücksichtigt, daß die isolierten Globuline des normalen Serums schon an sich positive Wassermannsche Reaktion, wie bereits erwähnt, geben können, so sind die Angaben von Hirschfeld und Klinger hiermit wohl vereinbar. Handelt es sich doch bei allen von diesen Autoren benutzten Eingriffen um Globulinfällungsmittel, also um solche Methoden, die geeignet sind, die Globuline zu labilisieren und sie der „antagonistischen Rolle der Albumine zu entziehen“ (Friedemann, vgl. auch P. Schmidt).

Wie nun insbesondere H. Sachs ³⁾ aus seinen und seiner Mitarbeiter Untersuchungen geschlossen hat, handelt es sich auch bei der Wassermannschen Reaktion

1) Dabei muß freilich die Frage offenbleiben, ob die Unterschiede, welche zwischen der positiven Wassermannschen Reaktion mit aktivem Normalserum und der echten positiven Wassermannschen Reaktion mit inaktiviertem syphilitischen Serum bestehen, in ihrem Wesen qualitativer oder vielleicht nur quantitativer Art sind. Praktisch müssen sie unter den für die Serodiagnostik der Syphilis erprobten Bedingungen jedenfalls als qualitativ imponieren.

2) L. Hirschfeld und R. Klinger, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21, 1914, p. 40; Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 25; Biochem. Zeitschr. Bd. 70, 1915, p. 398.

3) H. Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1916, No. 52.

letzten Endes um eine Globulinveränderung, wie sie einerseits im salzarmen Medium, andererseits aber auch bei Salzgegenwart unter der Mitwirkung geeigneter Faktoren (Organextrakte) entsteht. Tatsächlich haben Sachs und Altmann¹⁾ im Anschluß an die Untersuchungen von Sachs und Teruuchi²⁾ zeigen können, daß zwischen der Wassermannschen Reaktion und der Inaktivierung der Komplemente im salzarmen Medium in vieler Hinsicht Analogien bestehen, die sich besonders darin äußern, daß sekundäre Momente (Reaktion des Mediums, Temperatur) von gleichsinnigem Einflusse auf beide Formen der antikomplementären Wirkung sind. Nach der von Sachs entwickelten Anschauung handelt es sich daher auch bei der Wassermannschen Reaktion um eine Komplementinaktivierung, die an eine Globulinveränderung bestimmten Grades gebunden ist. Natürlich ist damit die Veränderung, welche im syphilitischen Serum gegenüber dem Normalserum besteht, noch nicht näher präzisiert. Jedenfalls aber kann man annehmen, daß die Globuline im Syphilitiker Serum in anderer Form vorhanden sind als im Normalserum, da eben nur das Zusammenwirken des Organextraktes mit dem Syphilitiker Serum zu der die Komplementinaktivierung bedingenden Globulinveränderung führt, während bei dem Kontakt des Normalserums mit dem Organextrakt eine derartige Globulinveränderung und damit eine Aufhebung der Komplementfunktion ausbleibt.

Gerade deshalb aber konnten die Versuche von Hirschfeld und Klinger verheißungsvoll erscheinen, da sie ja als Mittel zur Serumumwandlung einen Weg benutzten, der, wie wir schon aus den Untersuchungen von Sachs und Teruuchi sowie von Sachs und Altmann wissen, zu einer Globulinveränderung führt, die unter Umständen bereits solche Grade

1) H. Sachs und K. Altmann, Handb. d. pathog. Mikroorganismen (Kolle-Wassermann), 1. Aufl., 2. Erg.-Bd., 1909, p. 542; Berl. klin. Wochenschrift, 1908, No. 14; Biochem. Zeitschr., Bd. 78, 1916, p. 46 (vgl. auch, Vereinigung f. Mikrobiologie, Berlin 1908); Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 26, 1917, p. 460.

2) H. Sachs und Y. Teruuchi, Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 16, 17 u. 19.

erreichen kann, daß die Komplementinaktivierung schon an und für sich erfolgt (Hydrolabilität der Komplemente). Andererseits wissen wir allerdings schon aus den Untersuchungen von Sachs und seinen Mitarbeitern, daß die Möglichkeit, die biologische (in diesem Falle antikomplementäre) Wirkung der Globulinveränderung nachzuweisen, abhängig ist von sekundären Eigenschaften des Meerschweinchenserums, sowie von Temperatur und Reaktion des Mediums. Insbesondere ist nach Sachs und Teruuchi die Fähigkeit des Serums, beim Verdünnen im salzarmen Medium antikomplementär zu wirken, ausgesprochen thermolabil, indem nach den Untersuchungen von Sachs und Teruuchi bereits 10 Minuten langes Erwärmen des Meerschweinchenserums auf 51° genügt, um die Komplementinaktivierung im salzarmen Medium aufzuheben.

Es schien daher von Interesse, die Angaben von Hirschfeld und Klinger von den sich aus den Arbeiten von Sachs und Teruuchi sowie von Sachs und Altmann ergebenden Gesichtspunkten aus einer Prüfung und erweiterten experimentellen Analyse zu unterziehen. Insbesondere schien es mir von Wichtigkeit, festzustellen, ob die durch globulinverändernde Eingriffe erhaltenen, zur Wassermannschen Reaktion führenden Eigenschaften des Serums thermostabil sind, und ob die Fähigkeit der normalen Sera, durch globulinverändernde Eingriffe wassermannspositiv zu werden, bei einer Veränderung der Serumbeschaffenheit durch eine geeignete vorherige Behandlung des Serums aufgehoben werden kann. Als Mittel, eine derartige Veränderung der Serumbeschaffenheit zu erzielen, kamen nach Sachs und Teruuchi Einflüsse thermischer Art, nach Ritz und Sachs¹⁾ sowie nach Nathan²⁾ Einwirkung von Salzsäure und Natronlauge auf das Serum in Frage. Schließlich habe ich noch, um die Bedeutung des physikalischen Moments der für die hier zu behandelnden Serumveränderungen in Betracht kommenden Agentien mit Deutlichkeit zu demonstrieren, das Inulin herangezogen, von dem wir ja aus meinen früheren Unter-

1) H. Ritz und H. Sachs, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 26, 1917, p. 483.

2) E. Nathan, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 26, 1917, p. 503.

suchungen¹⁾ wissen, daß es sich je nach dem physikalischen Zustand, in dem es sich befindet, als Suspension oder als Lösung, ebenso wie bei der Anaphylatoxinbildung auch in bezug auf die antikomplementäre Wirkung wesentlich different verhält. Meine Untersuchungen galten demnach im wesentlichen der Beantwortung folgender Fragen:

1. Gelingt es, normale menschliche Sera durch globulinverändernde Einflüsse so zu verändern, daß sie positive Wassermannsche Reaktion geben, und welche Bedeutung kommt dabei der Temperatur, der Serumkonzentration und der Reaktion des Mediums zu?

2. Welche Bedeutung hat der physikalische Zustand des die Umwandlung des Serums bedingenden Agens?

3. Welchen Einfluß hat die Beschaffenheit des Serums auf die Umwandelbarkeit der Reaktion?

4. Handelt es sich bei den durch künstliche Eingriffe wassermannspositiv gemachten Seren um echte Wassermannsche Reaktion, d. h. sind die künstlich erhaltenen Serumqualitäten ebenso wie die natürlichen des Luesserums thermostabil?

Methodische Vorbemerkungen.

Bevor ich auf die Einzelheiten der angewandten Methodik eingehe, möchte ich hier einleitend einige allgemeinere, jedoch nicht unwesentliche Punkte hervorheben, die zwar in den folgenden Abschnitten zum Teil nochmals und in eingehenderer Weise eine Darstellung erfahren, deren kurze Zusammenfassung jedoch auch an dieser Stelle ihrer allgemeineren Bedeutung halber gerechtfertigt sein dürfte.

Die zu den Versuchen über die Umwandelbarkeit der Reaktion dienenden menschlichen Blutsera waren ausnahmslos ganz frisch, d. h. direkt vor ihrer Verwendung durch Venenpunktion gewonnen. Die Blutproben blieben bis zur Gerinnung stehen, wurden dann zentrifugiert und das Blutserum abgegossen. Ich erwähne diese Punkte besonders, da sich einmal ältere oder gelagerte Sera wegen der beim Lagern eintretenden Stabilisierung der Globuline für die zu behandelnden Fragen weniger oder gar nicht eignen dürften (vgl. auch die Angaben von Sachs und Teruuchi über die Bedeutung des Alters der Sera hinsichtlich der Hydro-

1) E. Nathan, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 23, 1914, p. 204; H. Sachs und E. Nathan, Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 25.

labilität des Komplements), und da andererseits vielleicht auch die Art der Serumgewinnung nicht ohne Einfluß auf die Serumbeschaffenheit sein dürfte (vgl. z. B. den Einfluß des Schüttelns der Sera, der Defibrinierung, des Zusatzes von Salzen usw.).

Alle Sera kamen mit Ausnahme derjenigen Versuchsserien, die der Untersuchung thermischer Einflüsse galten, in aktivem, d. h. nicht erhitztem Zustand zur Verwendung. Es war daher, um bei den Versuchen über die Umwandlung der Reaktion einwandfreie Resultate zu erhalten, notwendig, immer Kontrollversuche mit dem aktiven unbehandelten Serum allein im Versuch mitzuführen. Denn wie wir aus den Angaben von Sachs und Altmann, Isabolinsky, Boas, Kreuter und Pöhlmann u. a. wissen, geben relativ viele menschlichen Sera in aktivem Zustand schon an und für sich eine schwach positive oder positive Wassermannsche Reaktion. Infolgedessen waren relativ viele Versuchsserien unbrauchbar, da die Serumkontrollen allein schon Hemmungen im Sinne einer positiven Wassermannschen Reaktion ergaben, diese Versuche also einen Schluß auf eine stattgehabte Umwandlung der Reaktion der Sera nicht zulassen konnten. Eine Verwertung im Sinne des Nachweises einer Umwandlung der Reaktion konnte daher nur denjenigen Versuchen zugemessen werden, bei denen die Serumkontrollen allein totale Hämolyse, also völlige negative Wassermannsche Reaktion ergaben.

Ebensowenig konnten natürlich Versuche verwertet werden, bei denen die Extraktkontrollen, und zwar sowohl die einfache wie die doppelte, nicht vollkommen einwandfrei, d. h. ohne antikomplementäre Wirkung waren, da ja bei der größeren Neigung der aktiven Sera zu unspezifischer Reaktion bei nicht einwandfreien Extraktkontrollen eine Summation beider Wirkungen hätte vorliegen und zu Trugschlüssen Veranlassung geben können.

Es liegt ferner im Wesen der hier zu besprechenden Serumveränderung, daß die Individualität der Versuchssera, wie sich aus den späteren Darlegungen ergeben wird, von großer Bedeutung für den Versuchsausfall war. Die verschiedenen Sera erwiesen sich, was die Umwandelbarkeit ihrer Reaktion betraf, als sehr verschieden geeignet insofern, als bei vielen Sera gar keine oder nur eine geringfügige Umwandlung der Reaktion eintrat, bei anderen dagegen prompt erfolgte. Um daher überhaupt die Möglichkeit zu haben, allgemein gültige Gesetzmäßigkeiten aufzustellen, war es also notwendig, jeden Versuch in Reihen mit verschiedenen Sera anzusetzen bzw. einer vielmaligen Wiederholung zu unterziehen, um durch die Anzahl der untersuchten Sera die individuelle Streuung der Versuchsergebnisse auszuschalten und die Gesetzmäßigkeit des Versuchsausfalls deutlich hervortreten zu lassen.

Endlich konnte bei denjenigen Versuchen, bei denen die Sera im Laufe des Versuches einer Behandlung mit Salzsäure oder Natronlauge unterzogen wurden, das Versuchsergebnis in manchen Fällen dadurch eine Beeinträchtigung erfahren, daß die derart behandelten Sera eine Tendenz zu schwach positiver Reaktion oder zu Eigenhemmung ge-

wannen. Auch derartige Versuche mußten natürlich ausgeschaltet werden, da sie einen Aufschluß über die Umwandelbarkeit des Serums im Sinne einer positiven Wassermannschen Reaktion nicht geben konnten.

Es ergibt sich aus diesen allgemeinen Vorbemerkungen, wie schwierig und methodisch verwickelt die Versuche sich im einzelnen gestalteten. Es war daher trotz zahlreicher Wiederholung der Versuche nicht in allen Fällen möglich, präzise Aufschlüsse zu erhalten, so daß manche Fragen, die sich im Laufe meiner Untersuchungen ergaben, noch einer weiteren Klärung bedürfen.

Was nun die Einzelheiten der Methodik betrifft, so wurde die Prüfung der experimentell umgewandelten Sera auf Wassermannsche Reaktion derart ausgeführt, daß absteigende Mengen der Extraktverdünnungen (0,25—0,15—0,1 ccm) im Volumen 0,25 ccm mit je 0,25 ccm der meist 10-fach, nur ausnahmsweise stärker verdünnten Menschensera 1 Stunde lang im Brutschrank bei 37° digeriert wurden. Hierauf wurden je 0,5 ccm eines Gemisches gleicher Teile Hammelblutaufschwemmung und Ambozeptorverdünnung entsprechend 4—6 Ambozeptoreinheiten zugesetzt. Als Kontrolle wurden stets absteigende Mengen von Extraktverdünnungen (0,5—0,35—0,25—0,15—0) sowie die einfache (0,25 ccm) und die doppelte Dosis (0,5 ccm) des 10-fach verdünnten Menschenserums ohne weiteren Zusatz mit der gleichen, auch im Hauptversuch angewandten Komplementmenge angesetzt.

Als Extrakte dienten alkoholische Extrakte aus Rinderherzen, die nach den Angaben von H. Sachs durch geeigneten Cholesterinzusatz verstärkt waren. Die Extrakte wurden zum Gebrauch mit physiologischer Kochsalzlösung derart verdünnt, daß die Kochsalzlösung langsam unter ständigem Umschütteln tropfenweise der notwendigen, vorher abgemessenen Extraktmenge zugesetzt wurde (fraktionierte Verdünnung nach Sachs und Rondoni). Zur Anstellung der Wassermannschen Reaktion wurde der Extrakt auf die angegebene Weise 6-fach verdünnt.

Als Komplement diente, wie üblich, frisch gewonnenes Meer-schweinchenserum, als Ambozeptor vom Kaninchen durch Immunisierung mit Hammelblut gewonnenes Immunserum.

Der Grad der Hämolyse ist in den Versuchstabellen folgendermaßen notiert: k = komplette Hämolyse, fgk = fast ganz komplette Hämolyse, fk = fast komplette Hämolyse, st = starke Hämolyse, m = mäßige Hämolyse, w = wenig Hämolyse, Sp = Spur Hämolyse, Spch = Spürchen Hämolyse, 0 = keine Hämolyse.

Die weiteren technischen und methodischen Einzelheiten der Versuchsanordnung sind aus den Versuchsprotokollen zu ersehen.

B. Experimenteller Teil.

I. Ueber die Umwandlung negativer Sera im salzarmen Medium.

Das einfachste Mittel, um einen globulinverändernden Einfluß auf das Blutserum auszuüben, besteht in einer Aus-

schaltung der Salzwirkung durch Verdünnen des Serums mit destilliertem Wasser. Ich habe daher zunächst die Angaben von Hirschfeld und Klinger über den Einfluß des salzarmen Mediums nachgeprüft und zugleich den Grad der durch diesen Eingriff bedingten Globulinveränderung nach Möglichkeit zu variieren versucht. Hierzu standen auf Grund der Arbeiten von Sachs und Teruuchi sowie von Sachs und Altmann über die Komplementinaktivierung im salzarmen Medium zur Verfügung:

1. Veränderung der Temperatur,
2. Veränderung der Serumkonzentration,
3. Veränderung der Reaktion des Mediums.

Schon meine ersten Versuche konnten einmal die Angaben von Hirschfeld und Klinger prinzipiell bestätigen, wenn sie auch ergaben, daß die im Brutschrank im salzarmen Medium digerierten Serumproben nicht regelmäßig, sondern nur ausnahmsweise positiv wurden, zugleich aber auch dar- tun, daß die Möglichkeit, wassermannnegative Sera durch Digerieren im salzarmen Medium wassermannpositiv zu machen, bei Temperaturerniedrigung zunimmt.

Methodisch verfuhr ich dabei zunächst derart, daß je 0,5 ccm normalen aktiven Menschenserums, mit 4,1 ccm destillierten Wassers verdünnt, ungefähr 24 Stunden stehenblieben, und zwar je eine Probe jeden Serums einerseits im Brutschrank, andererseits im Eisschrank; sodann wurden die Serumproben durch Zusatz von 0,4 ccm 10-proz. Kochsalzlösung isotonisch gemacht und auf Wassermannsche Reaktion in der üblichen Weise untersucht. Einige Versuchsbeispiele aus einer größeren Anzahl von Sera mögen diese Verhältnisse erläutern.

Tabelle I.

Menge des Extraktes ccm	Wassermannsche Reaktion normaler Menschensera nach Digestion mit Aqua destillata in der Wärme und Kälte											
	Serum 1		Serum 2		Serum 3		Serum 4		Serum 5		Serum 6	
	a Wärme	b Kälte	a Wärme	b Kälte	a Wärme	b Kälte	a Wärme	b Kälte	a Wärme	b Kälte	a Wärme	b Kälte
$\frac{1}{2}$ 0,25	st	Spch	0	0	w	0	k	w	Sp	0	fk	0
0,15	k	fk	0	0	k	st	k	st	w	0	k	0
0,1	k	fk	0	0	k	fk	k	fgk	m	Spch	k	0
0	k	k	k	k	k	k	k	fgk	k	Sp	k	k
doppelte Serum- kontrolle	k	k	k	k	k	k	k	Spch	m	Spch	Spch	w

Tabelle II.

Menge des Extraktes ccm	Wassermannsche Reaktion normaler Menschensera nach Digestion mit Aqua destillata in der Wärme und Kälte											
	Serum 7		Serum 8		Serum 9		Serum 10		Serum 11		Serum 12	
	a Wärme	b Kälte	a Wärme	b Kälte	a Wärme	b Kälte	a Wärme	b Kälte	a Wärme	b Kälte	a Wärme	b Kälte
$\frac{1}{8}$ 0,25	Spch	0	Sp	0	st	0	k	0	Spch	0	m	0
0,15	Sp	Spch	m	Spch	st	0	k	0	Spch	0	fk	0
0,1	Sp	Spch	st	Sp	st	Sp	k	0	Spch	0	fk	0
0	Sp	Sp	st	st	fgk	fgk	k	0	Spch	0	fk	0
doppelte Serum- kontrolle	0	0	Sp	0	Sp	0	Spch	0	0	0	Spch	0

Tabelle III.

Menge des Extraktes ccm	Wassermannsche Reaktion normaler Menschensera nach Digestion mit Aqua destillata in der Wärme und Kälte											
	Serum 13		Serum 14		Serum 15		Serum 16		Serum 17		Serum 18	
	a Wärme	b Kälte	a Wärme	b Kälte	a Wärme	b Kälte	a Wärme	b Kälte	a Wärme	b Kälte	a Wärme	b Kälte
$\frac{1}{8}$ 0,25	Sp	0	k	0	st	0	fk	0	k	Spch	k	0
0,15	fk	0	k	Spch	st	0	fk	0	k	w	k	0
0,1	fk	0	k	w	fk	0	fk	Sp	k	w	k	0
0	k	k	k	k	fk	0	k	fk	k	k	k	0
doppelte Serum- kontrolle	0	0	k	0	fk	0	k	fk	k	k	k	0

Wie die Tabellen zeigen, sind die negativen Sera in der Wärme nur ausnahmsweise positiv geworden, während die Behandlung der Sera mit dem salzarmen Medium in der Kälte viel häufiger zu einer positiven Reaktion oder zum Auftreten von Eigenhemmung geführt hat. Einen zahlenmäßigen Ueberblick über den Ausfall der Wassermannschen Reaktion nach der Digestion der Sera im salzarmen Medium in der Kälte und in der Wärme gibt die folgende Tabelle.

Tabelle IV.

	Unter 50 Sera waren nach 24-stündiger Digestion im salzfreien Medium			
	negativ	schwach positiv	positiv	eigenhemmend
in der Wärme	41	1	1	7
in der Kälte	15	5	6	24

Wie die Tabelle zahlenmäßig zeigt, kam es bei den untersuchten Sera unter dem Einfluß des salzarmen Mediums in der Wärmenur ganz ausnahmsweise zum Auftreten einer positiven Wassermannschen Reaktion, während die Behandlung der Sera mit dem salzarmen Medium in der Kälte in weit höherem Prozentsatz zu einem Umschlag der Reaktion in positivem Sinne führte. Auch wurden die Sera, wie die Tabelle zeigt, in der Kälte weit öfter eigenhemmend als in der Wärme. Es ergibt sich also daraus, daß die Aenderung der Serumqualität, wie sie unter dem Einfluß der Kälte eintritt, weit öfter zu demjenigen Grad der Globulinveränderung zu führen vermag, an den die positive Wassermannsche Reaktion gebunden erscheint. Immerhin blieb auch bei der Digestion der Sera in der Kälte relativ oft der Umschlag der negativen Reaktion in eine positive völlig aus, so daß von einer Gesetzmäßigkeit des Umschlages der Reaktion keine Rede sein konnte.

Zur weiteren Klärung des Einflusses, den die Zustandsänderung der Serumglobuline auf die Entstehung einer positiven Wassermannschen Reaktion ausübt, untersuchte ich nun die Bedeutung der Konzentration, d. h. des Verdünnungsgrades des Serums, da zu erwarten war, daß das Optimum der für den Eintritt der positiven Wassermannschen Reaktion geeigneten Globulinalteration eventuell bei einer anderen als der untersuchten 10-fachen Verdünnung gelegen sein konnte. Man konnte ja auch daran denken, daß sich die einzelnen Sera hinsichtlich dieses Optimums verschieden verhalten würden, und daß es insbesondere von dem verschiedenen Konzentrationsgrad des Serums und der dadurch bewirkten Variation der Globulinveränderung abhängen würde, ob die Sera auf den Einfluß des salzarmen Mediums mit dem Entstehen einer positiven Wassermannschen Reaktion oder eigenhemmender Funktionen reagieren würden. Daß es auf diese Weise tatsächlich gelingt, mit einer gewissen Regelmäßigkeit normale Sera, wenigstens bei der Digestion im salzarmen Medium in der Kälte, wassermannspositiv zu machen, zeigt das nächste Versuchsbeispiel.

Je 0,5 ccm aktives normales Menschenserum werden in zwei parallelen Versuchshälften

A. 24 Stunden im Brutschrank,

B. 24 Stunden im Eisschrank

unter Zusatz von

1) 0,5 ccm Aqua dest. (= $\frac{1}{2}$ -fache Serumverdünnung),

2) 2,0 „ „ „ (= 5-fache „ „),

3) 4,5 „ „ „ (= 10-fache „ „),

4) 7,0 „ „ „ (= 15-fache „ „),

5) 8,6 „ „ „ (= 20-fache „ „)

digiert. Hierauf werden die Serumproben isotonisch gemacht und derart verdünnt, daß in allen Röhrchen 20-fache Serumverdünnung resultiert.

Sodann wird die Wassermannsche Reaktion in der üblichen Weise angestellt.

Das Resultat zeigt die Tabelle V.

Tabelle V.

Mengen des Extraktes ccm	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit Aqua destillata									
	A. im Brutschrank					B. im Eisschrank				
	in der Verdünnung					in der Verdünnung				
	1) $\frac{1}{2}$	2) $\frac{1}{5}$	3) $\frac{1}{10}$	4) $\frac{1}{15}$	5) $\frac{1}{20}$	1) $\frac{1}{2}$	2) $\frac{1}{5}$	3) $\frac{1}{10}$	4) $\frac{1}{15}$	5) $\frac{1}{20}$
$\frac{1}{6}$ 0,25	k	k	k	k	k	fk	st	0	0	0
0,15	k	k	k	k	k	fk	k	0	0	0
0,1	k	k	k	k	k	k	k	0	0	0
0	k	k	k	k	k	k	k	0	Sp	k
doppelte Serum- kontrolle	k	k	k	k	k	k	k	0	Sp	Sp

Wie Teil A der Tabelle zeigt, ist bei der Digestion des Serums in der Wärme ein Umschlag der Reaktion nicht erfolgt. Dagegen zeigt Teil B der Tabelle, daß das Serum bei der Digestion im salzarmen Medium in der Kälte bei 10- und 15-facher Verdünnung eigenhemmend, bei 20-facher Verdünnung wassermanns-positiv geworden ist. Es hängt also bei der Digestion der Sera in der Kälte von der Konzentration des Serums ab, ob das Serum negativ bleibt, eigenhemmend oder wassermanns-positiv wird.

Dabei möchte ich aber noch besonders erwähnen, daß es durch eine Aenderung der Versuchsanordnung häufig, wenn auch nicht immer, gelingt, die Eigenhemmung der Sera, die bei bestimmten Verdünnungsgraden bzw. bei bestimmten Seren auftritt, auszuschalten und auch bei derartigen Seren das Be-

stehen einer positiven Wassermannschen Reaktion nachzuweisen. Man braucht zu diesem Zweck lediglich das Serum in absteigenden Mengen in zwei parallelen Reihen mit und ohne Extrakt zu digerieren, um bei der Mehrzahl der Sera die Zone der Eigenhemmung von der Zone der positiven Wassermannschen Reaktion, d. h. einer Zone der Hemmung im Verein mit dem Extrakt differenzieren zu können, wie es das folgende Versuchsbeispiel zeigt:

0,5 ccm aktives normales Menschenserum wird unter Zusatz von 4,1 ccm Aqua dest. im Eischrank 24 Stunden digeriert und hierauf isotonisch gemacht. Sodann werden absteigende Mengen des Serums (Volumen 0,25 ccm) in zwei parallelen Reihen

a) mit 0,25 ccm alkoholischen Rinderherzextraktes,

b) mit 0,25 ccm physiologischer Kochsalzlösung

unter Zusatz von 0,25 ccm 10-fach verdünnten Meerschweinchenserums 1 Stunde im Brutschrank digeriert. Hierauf erfolgt Zusatz des hämolytischen Systems.

Das Resultat zeigt die Tabelle VI.

Tabelle VI.

Mengen des Serums ccm	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Behandlung mit Aqua destillata	
	a) mit Extrakt	b) ohne Extrakt
$\frac{1}{10}$ 0,25	0	0
0,15	0	0
0,1	0	fk
$\frac{1}{50}$ 0,25	0	fk
0,15	0	k
0,1	Sp	k
$\frac{1}{100}$ 0,25	m	k
0,15	k	k
0,1	k	k
0	k	k

Wie die Tabelle zeigt, erlischt im vorliegenden Versuch bei Verwendung von 0,1 ccm 10-facher Serumverdünnung die Eigenhemmung des Serums, während es noch bei Verwendung von 0,1 ccm der 50-fachen Serumverdünnung zusammen mit dem Extrakt zu fast völliger Komplementbindung, d. h. zu positiver Wassermannscher Reaktion führt.

Bei den erwähnten Versuchen mit verschiedenen Verdünnungen der Sera im salzarmen Medium tritt nun die Individualität der Versuchssera bereits deutlich zu-

tage. Es läßt sich keineswegs ein einheitlicher Verdünnungsgrad angeben, der die geeignetste Bedingung für das Positivwerden der Sera darstellt. Ebenso wie in dem vorher angegebenen Versuchsbeispiel schon bei 10-facher Serumverdünnung Eigenhemmung, bei 20-facher Verdünnung positive Wassermannsche Reaktion eintritt, so gibt es andere Serumproben, bei denen die Veränderung der Serumbeschaffenheit erst bei stärkerem Verdünnungsgrad manifest wird. Natürlich beziehen sich meine Erfahrungen und Angaben auf sonst gleichbleibende Versuchsbedingungen, nämlich auf 24-stündige Digestion der Sera im salzarmen Medium, und es muß natürlich offen gelassen werden, ob bei Variation der Zeit andere Verdünnungsgrade das Optimum darstellen. Mit der Inaktivierung des Komplements im salzarmen Medium besteht die Analogie jedoch auch insofern, als ein zu starker Verdünnungsgrad das Positivwerden des Serums wieder vereiteln kann. Das folgende Versuchsbeispiel mag dafür als Beleg dienen.

Je 0,5 ccm aktives normales Menschenserum werden unter Zusatz von

- 1) 0,5 ccm Aqua dest. (= $\frac{1}{2}$ -fache Serumverdünnung),
- 2) 2,0 „ „ „ (= 5-fache „ „),
- 3) 4,5 „ „ „ (= 10-fache „ „),
- 4) 7,0 „ „ „ (= 15-fache „ „),
- 5) 8,6 „ „ „ (= 20-fache „ „),
- 6) 14,5 „ „ „ (= 30-fache „ „),
- 7) 22,1 „ „ „ (= 50-fache „ „)

24 Stunden im Eisschrank digeriert und hierauf nach Herstellung der Isotonie mit physiologischer Kochsalzlösung derart aufgefüllt, daß in allen Röhrchen 50-fache Serumverdünnung resultiert.

Hierauf wird die Wassermannsche Reaktion in der üblichen Weise angestellt.

Das Resultat zeigt die Tabelle VII.

Tabelle VII.

Menge des Extraktes ccm	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit Aqua destill. in den Verdünnungen						
	1) $\frac{1}{2}$	2) $\frac{1}{5}$	3) $\frac{1}{10}$	4) $\frac{1}{15}$	5) $\frac{1}{20}$	6) $\frac{1}{30}$	7) $\frac{1}{50}$
$\frac{1}{6}$ 0,25	k	k	k	k	0	0	k
0,15	k	k	k	k	Sp	Sp	k
0,1	k	k	k	k	Sp	Sp	k
0	k	k	k	k	w	k	k
doppelte Serum- kontrolle	k	k	k	k	0	fk	k

Wie die Tabelle zeigt, ist die bei 20-facher Verdünnung im salzfreien Medium digerierte Serumprobe eigenhemmend, die bei 30-facher Verdünnung digerierte Serumprobe wassermannpositiv geworden. Dagegen haben die mit schwächerer, sowie die mit stärkerer Wasserverdünnung behandelten Serumproben keinen Umschlag ihrer negativen Reaktion in eine positive erfahren, so daß auch dieser Versuch die Abhängigkeit des Umschlags der Reaktion bzw. das Auftreten von Eigenhemmung von dem Verdünnungsgrad des Serums in eindeutiger Weise demonstriert. Da nun der Verdünnungsgrad des Serums für den jeweiligen Grad der Globulinveränderung von maßgebender Bedeutung ist, so ergibt sich aus den mitgeteilten Versuchen, daß die Aenderung der Serumqualität im Sinne des Auftretens einer positiven Wassermannschen Reaktion bzw. von Eigenhemmung bei der Behandlung der normalen Sera im salzarmen Medium an einen bestimmten optimalen Grad der Globulinveränderung geknüpft ist. Ist dieser Grad noch nicht erreicht, so bleibt der Umschlag der negativen Wassermannschen Reaktion des Serums im positiven Sinne aus. Ist dieser optimale Grad der Globulinveränderung bereits überschritten, so behält das Serum seine negative Reaktion. Es ergibt sich weiterhin aus diesen Versuchen, daß der für den Umschlag der Reaktion notwendige Grad der Globulinveränderung beim Stehen der Sera im salzarmen Medium selbst in verschiedenen Verdünnungen in der Wärme nur ausnahmsweise erreicht wird, daß dagegen bei Digestion des Serums in der Kälte die Umwandlung der Reaktion bei bestimmten Verdünnungen fast regelmäßig eintritt, da sich hierbei die die Globulinfällung im salzarmen Medium begünstigende Wirkung der Kälte geltend macht. Es hängt nun von der jeweiligen Eigenart des Serums bzw. von dem jeweiligen Verdünnungsgrad und der dadurch bedingten Variation der Globulinveränderung ab, ob das Serum auf den Einfluß der Wasserverdünnung mit dem Entstehen einer positiven Wassermannschen Reaktion oder mit dem Auftreten eigenhemmender Funktionen reagiert.

Ebenso wie nun der Einfluß der Temperaturerniedrigung und der Konzentrationsänderung, wie ich in den vorangehenden Versuchen gezeigt habe, zu einer Verstärkung der Globulinveränderung und damit zu einem deutlicheren Positivwerden der Sera führt, kann man die gleiche Verstärkung der Globulinveränderung, wie sich aus den Versuchen von Sachs und Altmann über die Beeinflussung der antikomplementären Wirkung des salzarmen Mediums ergibt, auch durch eine Erhöhung der H-Ionenkonzentration erzielen. Es war daher anzunehmen, daß es beim Digerieren normaler Sera im salzarmen Medium in der Wärme, wobei das Serum nach meinen Erfahrungen meist entweder gar keine oder nur eine schwach positive Wassermannsche Reaktion gewinnt, gelingen würde, durch Säurezusatz die Umwandlung des Serums im Sinne des Positivwerdens zu begünstigen. Wie das folgende Versuchsbeispiel zeigt, entsprach die experimentelle Prüfung in der Tat dieser Erwartung.

Je 0,5 ccm aktives normales Menschenserum werden mit

- | | | |
|------------|------------------|-------------------------|
| 1) 4,0 ccm | $\frac{1}{50}$ | Normalsalzsäure-Wasser, |
| 2) 4,0 " | $\frac{1}{100}$ | " " |
| 3) 4,0 " | $\frac{1}{200}$ | " " |
| 4) 4,0 " | $\frac{1}{500}$ | " " |
| 5) 4,0 " | $\frac{1}{750}$ | " " |
| 6) 4,0 " | $\frac{1}{1000}$ | " " |
| 7) 4,0 " | | Aqua destillata |

24 Stunden im Brutschrank bei 37° digeriert. Sodann werden die Serumproben mit 0,4 ccm

- | | |
|--------------------|---|
| 1) $\frac{1}{5}$ | Normalnatronlauge in 10-proz. Kochsalzlösung. |
| 2) $\frac{1}{10}$ | " " " |
| 3) $\frac{1}{20}$ | " " " |
| 4) $\frac{1}{50}$ | " " " |
| 5) $\frac{1}{75}$ | " " " |
| 6) $\frac{1}{100}$ | " " " |

unter gleichzeitiger Herstellung der Isotonie neutralisiert und die Gemische sodann durch Zusatz physiologischer Kochsalzlösung auf 10-fache Serumverdünnung gebracht.

Hierauf erfolgt die Anstellung der Wassermannschen Reaktion in der üblichen Weise.

Das Resultat zeigt die Tabelle VIII.

Tabelle VIII.

Menge des Extraktes ccm	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit						
	Salzsäure-Wasser in der Verdünnung						7) Aqua destillata
	1) $\frac{1}{50}$	2) $\frac{1}{100}$	3) $\frac{1}{200}$	4) $\frac{1}{500}$	5) $\frac{1}{750}$	6) $\frac{1}{1000}$	
$\frac{1}{6}$ 0,25	k	k	0	Spch	Spch	Spch	Spch
0,15	k	k	0	Sp-w	w	st	fk
0,1	k	k	0	fk	fk	fk	fk
0	k	k	k	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	k	k	k	k	k	k	k

Wie zunächst die Reihe 7 der Tabelle zeigt, ist das Serum durch die Behandlung im salzarmen Medium allein überhaupt nur sehr schwach positiv geworden. Bereits die Einwirkung von $\frac{1}{1000}$ Normalsalzsäure führte aber zu einer sichtlichen Verstärkung der Serumveränderung im Sinne der positiven Wassermannschen Reaktion, die bei steigendem Säurezusatz zunimmt, bis sie bei einem Gehalt von $\frac{1}{200}$ Normalsalzsäure ein Maximum erreicht. Das Serum ist stark wassermannspositiv geworden. Es entspricht weiterhin der Tatsache, daß die positive Wassermannsche Reaktion bedingende Veränderung des Serums an einen optimalen Grad der Globulinveränderung und damit auch an einen optimalen Grad der Säurewirkung gebunden ist, daß ein Säureüberschuß die Umwandlung des Serums wieder verhindert. So genügt schon eine Steigerung der Säurekonzentration auf einen Gehalt von $\frac{1}{100}$ Normalsalzsäure, um die Wassermannsche Reaktion nach Einwirkung des salzarmen Mediums nicht mehr in Erscheinung treten zu lassen.

Nach den geschilderten Gesichtspunkten ist es nun nicht überraschend, daß auch solche Sera, die sich in der Wärme bei der Ausschaltung der Salze nicht im Sinne des Positivwerdens umwandeln lassen, trotzdem bei gleichzeitiger Interferenz optimaler H-Ionenkonzentration eine positive Wasser-

mannsche Reaktion gewinnen, wie es das nächste Versuchsbeispiel zeigt.

Je 0,5 ccm aktives normales Menschenserum werden mit

- 1) 4,0 ccm $\frac{1}{50}$ Normalsalzsäure-Wasser,
- 2) 4,0 „ $\frac{1}{100}$ „ „
- 3) 4,0 „ $\frac{1}{200}$ „ „
- 4) 4,0 „ $\frac{1}{500}$ „ „
- 5) 4,0 „ $\frac{1}{750}$ „ „
- 6) 4,0 „ $\frac{1}{1000}$ „ „
- 7) Aqua destillata

24 Stunden im Brutschrank bei 37° digeriert. Sodann werden die Serumproben mit

- 1) 0,4 ccm $\frac{1}{5}$ Normalnatronlauge in 10-proz. Kochsalzlösung
- 2) 0,4 „ $\frac{1}{10}$ „ „ „ „
- 3) 0,4 „ $\frac{1}{20}$ „ „ „ „
- 4) 0,4 „ $\frac{1}{50}$ „ „ „ „
- 5) 0,4 „ $\frac{1}{75}$ „ „ „ „
- 6) 0,4 „ $\frac{1}{100}$ „ „ „ „
- 7) 0,4 „ 10-proz. Kochsalzlösung

unter gleichzeitiger Herstellung der Isotonie neutralisiert, und die Gemische sodann durch entsprechenden Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung auf 10-fache Serumverdünnung gebracht.

Hierauf erfolgt die Anstellung der Wassermannschen Reaktion in der üblichen Weise.

Das Resultat zeigt die Tabelle IX.

Tabelle IX.

Menge des Extraktes	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit						7) Aqua destillata
	Salzsäurewasser in der Verdünnung						
ccm	1) $\frac{1}{50}$	2) $\frac{1}{100}$	3) $\frac{1}{200}$	4) $\frac{1}{500}$	5) $\frac{1}{750}$	6) $\frac{1}{1000}$	
$\frac{1}{6}$ 0,25	k	k	0	w	st	k	k
0,15	k	k	Sp	fgk	k	k	k
0,1	k	k	Sp	k	k	k	k
0	k	k	fk	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	k	fgk	fk	fk	k	k	k

Wie die Tabelle zeigt, ist das Serum unter dem Einfluß des salzarmen Mediums allein nicht wassermannspositiv geworden. Dagegen führt bereits die Einwirkung von $\frac{1}{750}$ Normalsalzsäure auf das Serum zu einer geringen Beeinflussung der Serumqualität, die bei steigendem Säurezusatz derart zunimmt, daß das Serum unter dem Einfluß der Behandlung

mit $\frac{1}{200}$ Normalsalzsäure eine starke positive Wassermannsche Reaktion gibt. Dagegen verhindert auch bei diesem Versuch wiederum ein Säureüberschuß den Umschlag der negativen Wassermannschen Reaktion in die positive.

Daß natürlich auch bei der Kombination des salzarmen Mediums mit der Veränderung der Säure-Ionenkonzentration individuelle Variationen vorkommen können, muß nach meinen obigen Ausführungen selbstverständlich erscheinen. Schon aus dem früher Gesagten ergibt sich ja, daß das Positivwerden der Sera gewissermaßen eine Mittelstufe zwischen zwei Extremen darstellt. Das eine Extrem ist das ideal normale Serum, das weder Wassermannsche Reaktion gibt noch an und für sich antikomplementäre Wirkungen ausübt. Das andere Extrem ist das ausgesprochen an und für sich antikomplementär wirkende Serum, das ebenso wie in der Praxis der Serodiagnostik auch bei der experimentellen Analyse wissenschaftlicher Probleme die Entscheidung, ob es wassermannpositiv oder wassermannnegativ ist, ausschließt. So konnte es nicht überraschen, daß mir auch Sera begegneten, die schon bei einer verhältnismäßig geringen H-Ionenkonzentration unter dem Einfluß des salzarmen Mediums dieses zweite Extrem erreichten, d. h. eigenhemmend wurden. Daß auch hierbei die positive Wassermannsche Reaktion das Zwischenstadium bildet, zeigt das folgende Versuchsbeispiel, das den Einfluß verschiedenartiger Säurekonzentrationen auf das Serum dokumentiert.

Je 0,5 ccm aktives normales Menschenserum werden mit

- 1) 4,0 ccm $\frac{1}{50}$ Normalsalzsäure-Wasser,
- 2) 4,0 „ $\frac{1}{100}$ „ „
- 3) 4,0 „ $\frac{1}{200}$ „ „
- 4) 4,0 „ $\frac{1}{500}$ „ „
- 5) 4,0 „ $\frac{1}{750}$ „ „
- 6) 4,0 „ $\frac{1}{1000}$ „ „
- 7) 4,0 „ Aqua destillata

24 Stunden im Brutschrank bei 37° digeriert. Sodann werden die Serumproben mit

- 1) 0,4 ccm $\frac{1}{5}$ Normalnatronlauge in 10-proz. Kochsalzlösung
- 2) 0,4 „ $\frac{1}{10}$ „ „ „ „
- 3) 0,4 „ $\frac{1}{20}$ „ „ „ „
- 4) 0,4 „ $\frac{1}{50}$ „ „ „ „

- 5) 0,4 „ $\frac{1}{75}$ Normalnatronlauge in 10-proz. Kochsalzlösung,
6) 0,4 „ $\frac{1}{100}$ „ „ „ „
7) 0,4 „ 10-proz. Kochsalzlösung

unter gleichzeitiger Herstellung der Isotonie neutralisiert, und die Gemische sodann durch entsprechenden Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung auf 10-fache Serumverdünnung gebracht.

Hierauf erfolgt die Anstellung der Wassermannschen Reaktion in der üblichen Weise.

Das Resultat zeigt die Tabelle X.

Tabelle X.

Menge des Extraktes ccm	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschen Serum nach Vorbehandlung mit						
	Salzsäurewasser in der Verdünnung						7) Aqua destillata
	1) $\frac{1}{50}$	2) $\frac{1}{100}$	3) $\frac{1}{200}$	4) $\frac{1}{500}$	5) $\frac{1}{750}$	6) $\frac{1}{1000}$	
$\frac{1}{6}$ 0,25	k	k	0	0	Spch	Spch	Spch
0,15	k	k	0	Spch	Sp	Sp	w
0,1	k	k	0	Spch	Sp	Sp	w
0	k	k	0	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	k	k	0	k	k	k	k

Wie zunächst die Reihe 7 zeigt, ist das Serum durch das Stehen in der Wasserverdünnung deutlich, wenn auch nicht sehr stark wassermannpositiv geworden. Während nun diese schwach positive Reaktion durch den Zusatz von $\frac{1}{500}$, $\frac{1}{750}$ und $\frac{1}{1000}$ Normalsalzsäure eine erhebliche Verstärkung erfuhr, ist das Serum unter der Einwirkung der $\frac{1}{200}$ Normal-salzsäure völlig eigenhemmend geworden. Anderer-seits haben, wie die Reihen 1 und 2 der Tabelle zeigen, die $\frac{1}{50}$ und $\frac{1}{100}$ Salzsäurekonzentrationen die bei der Wasser-verdünnung allein entstehende positive Wassermannsche Reaktion wieder völlig aufzuheben vermocht.

Es ergibt sich aus diesen Versuchen also, daß bei denjenigen Seren, bei denen die Wasserverdünnung allein ohne Einfluß bleibt, die Herstellung einer Säurekonzentration von $\frac{1}{200}$ bis $\frac{1}{500}$ Normalsalzsäure genügt, um auch bei Digestion der Sera in der Wärme die zur Erzielung einer positiven Wassermannschen Reaktion geeignete Globulinveränderung herbeizuführen. Bei denjenigen Seren, bei denen schon die Wasserverdünnung allein geeignet ist, zum Entstehen einer, wenn auch schwach positiven, Wassermannschen Reaktion

zu führen, verstärkt der Säurezusatz den Umschlag der Reaktion oder vermag das Serum sogar eigenhemmend zu machen.

Nun habe ich auch Sera in Händen gehabt, die beim Verdünnen im neutralen salzarmen Medium weder in der Kälte noch in der Wärme zu einer positiven Wassermannschen Reaktion führten. In solchen Fällen ist es nicht ohne weiteres zu entscheiden, ob die Umwandlung der negativen Wassermannschen Reaktion in die positive in der Kälte deswegen ausbleibt, weil trotz des Einflusses der niederen Temperatur der optimale Grad der Globulinveränderung noch nicht erreicht ist, oder aber, ob der letztere durch den Kälteeinfluß bereits überschritten ist. Hier konnte nur die Versuchsanordnung unter Variierung der H-Ionenkonzentration eine gewisse Klärung erbringen. Bei ungenügender Globulinveränderung mußte man nämlich erwarten, daß auch in der Kälte bei geeignetem Säuregehalt die Umwandlung der negativen Reaktion in die positive erfolgt. Bei einem zu hohen Grad der Globulinveränderung konnte aber Säurezusatz das Uebel nur vergrößern, indem der schon an und für sich zu hohe Grad der Globulinveränderung eine weitere Verstärkung erfährt. Daß derartige Verhältnisse in der Tat vorkommen dürften, zeigt das folgende Versuchsbeispiel:

Je 0,5 ccm aktives normales Menschenserum werden in zwei parallelen Versuchshälften

A. 24 Stunden im Brutschrank,

B. 24 Stunden im Eisschrank

mit

- 1) 4,0 ccm $\frac{1}{50}$ Normalsalzsäure-Wasser,
- 2) 4,0 „ $\frac{1}{100}$ „ „
- 3) 4,0 „ $\frac{1}{200}$ „ „
- 4) 4,0 „ $\frac{1}{500}$ „ „
- 5) 4,0 „ $\frac{1}{750}$ „ „
- 6) 4,0 „ $\frac{1}{1000}$ „ „
- 7) 4,0 „ Aqua destillata

digiert. Sodann werden die Serumproben mit

- 1) 0,4 ccm $\frac{1}{5}$ Normalnatronlauge in 10-proz. Kochsalzlösung
- 2) 0,4 „ $\frac{1}{10}$ „ „ „ „
- 3) 0,4 „ $\frac{1}{20}$ „ „ „ „
- 4) 0,4 „ $\frac{1}{50}$ „ „ „ „
- 5) 0,4 „ $\frac{1}{75}$ „ „ „ „
- 6) 0,4 „ $\frac{1}{100}$ „ „ „ „
- 7) 0,4 „ 10-proz. Kochsalzlösung

unter gleichzeitiger Herstellung der Isotonie neutralisiert und durch entsprechenden Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung auf 10-fache Serumverdünnung gebracht.

Hierauf erfolgt die Anstellung der Wassermannschen Reaktion in der üblichen Weise.

Das Resultat zeigt die Tabelle XI.

Tabelle XI.

Menge des Extraktes ccm	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum													
	A. nach Vorbehandlung im Brutschrank mit							B. nach Vorbehandlung im Eischrank mit						
	Salzsäurewasser in der Verdünnung						7. Aqua dest.	Salzsäurewasser in der Verdünnung						7. Aqua dest.
	1. $\frac{1}{50}$	2. $\frac{1}{100}$	3. $\frac{1}{200}$	4. $\frac{1}{500}$	5. $\frac{1}{750}$	6. $\frac{1}{1000}$		1. $\frac{1}{50}$	2. $\frac{1}{100}$	3. $\frac{1}{200}$	4. $\frac{1}{500}$	5. $\frac{1}{750}$	6. $\frac{1}{1000}$	
$\frac{1}{4}$ 0,25	k	k	0	0	fk	k	k	k	k	k	k	k	k	k
0,15	k	k	0	Spch	fk	k	k	k	k	k	k	k	k	k
0,1	k	k	0	Spch	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
0	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	k	k	fk	fk	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k

Wie Teil A der Tabelle zeigt, ist das Serum unter der Einwirkung der $\frac{1}{200}$ und $\frac{1}{500}$ Normalsalzsäure im Brutschrank stark wassermannspositiv geworden, während die anderen Salzsäurekonzentrationen und das destillierte Wasser allein keinen Umschlag der Reaktion bewirkt haben. Dagegen zeigt Teil B der Tabelle, daß bei Digestion des Serums mit den gleichen Salzsäurekonzentrationen in der Kälte der Umschlag der Reaktion in positivem Sinne völlig ausgeblieben ist. Während also die Aenderung der Säure-Ionenkonzentration in der Wärme zum Auftreten einer positiven Reaktion zu führen vermochte, blieb die Behandlung des Serums in der Kälte ohne Erfolg.

Soweit man aus diesem Versuche Schlußfolgerungen ziehen kann, könnte also die Vermutung richtig erscheinen, daß in manchen Fällen die Veränderung der Globuline durch Kälte bereits so hochgradig ist, daß der optimale Grad der Globulinveränderung überschritten wird. Inwieweit diesem Umstand eine allgemeine Gesetzmäßigkeit zukommt, werden weitere Untersuchungen mit einer Mehrzahl von Seren ergeben müssen. Auch wird es gerade von dem hier erörterten Gesichtspunkt aus von

Bedeutung sein, den Einfluß der alkalischen Reaktion unter gleichzeitiger Variation der Serumkonzentration zu erforschen, Fragen, auf die meine bisherigen Versuche noch keine prinzipielle Antwort geben können, weil einerseits die in der Einleitung bereits erwähnten methodischen Schwierigkeiten insbesondere unter dem Einfluß der alkalischen Reaktion die weitere experimentelle Analyse erschwerten, und weil sich meine Versuche andererseits zunächst im wesentlichen auf die Erforschung anderer globulinverändernder Einflüsse auf das Serum sowie auf die Beziehung der derart erzielbaren Serumveränderung zur Wassermannschen Reaktion beschränken sollten.

II. Ueber die Umwandlung negativer Sera durch Bakterien-suspensionen.

Wie Hirschfeld und Klinger mitgeteilt haben, gelingt es ferner, normale Menschensera auch durch Digestion mit Suspensionskolloiden wassermannpositiv zu machen, da die Behandlung der Sera mit den benutzten Suspensionen ebenfalls zu einer Zustandsänderung der Serumglobuline zu führen vermag. Zwar sind diese Angaben, wenigstens was die Behandlung der Sera mit Bakterien- und Blutkörperchenaufschwemmungen sowie durch Schütteln betrifft, schon von F. Kraus¹⁾ bestätigt worden. Immerhin schien es mir wünschenswert, die diesbezüglichen Angaben von Hirschfeld und Klinger nochmals nachzuprüfen und vor allem hinsichtlich des Einflusses der Temperatur sowie der Konzentration des zu behandelnden Serums einer erweiterten experimentellen Analyse zu unterziehen.

Die verwandten Bakteriensuspensionen waren derart hergestellt, daß der Rasen 24-stündiger Schrägagarkulturen von *Bacillus prodigiosus* mit je 2,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung pro Kultur abgeschwemmt wurde. Die Bakterienaufschwemmungen wurden nach Zerreiben durch mehrere Stunden langes Schütteln im Schüttelapparat zu einer vollkommen gleichmäßigen Suspension gebracht und hierauf durch kurzdauerndes Erhitzen im Wasserbad auf 100° abgetötet.

Bei den Versuchen ergab sich, daß es in Bestätigung der Angaben von Hirschfeld und Klinger in der Tat mög-

1) Friedericke Kraus, Biochem. Zeitschr., Bd. 68, 1915, p. 48.

lich ist, bei einer gewissen Anzahl von Sera durch Behandlung mit einer Aufschwemmung von *Bacillus prodigiosus* eine mehr oder minder ausgeprägte positive Wassermannsche Reaktion oder Eigenhemmung zu erzielen. Eine größere Anzahl von Seren erwies sich dagegen als unbeeinflussbar und behielt ihre negative Reaktion, wenigstens bei der Digestion der Sera mit der Bakterienaufschwemmung im Brutschrank. Von einem regelmäßigen Umschlag der negativen Reaktion in eine positive konnte dagegen, wenigstens bei dem zuerst benutzten *Prodigiosus*-stamm, keine Rede sein, während bei einem zweiten, später benutzten Stamm die Ausbeute positiver Reaktionen wesentlich größer wurde.

Günstiger lagen die Verhältnisse, wenn die Sera nicht in der Wärme, sondern in der Kälte mit der Bakteriensuspension in Kontakt blieben. Unter diesen Bedingungen gelang es, in Uebereinstimmung mit den Erfahrungen im salzarmen Medium sehr viel häufiger und konstanter eine positive Wassermannsche Reaktion zu erhalten, wie es das folgende Versuchsbeispiel demonstriert:

Je 0,5 ccm aktiven normalen Menschenserums werden mit je 0,5 ccm einer Aufschwemmung von *Bacillus prodigiosus*

a) 24 Stunden im Brutschrank,

b) 24 Stunden im Eisschrank

digeriert. Hierauf werden die Gemische zentrifugiert und die Abgüsse durch Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung auf 10-fache Serumverdünnung gebracht.

Sodann wird die Wassermannsche Reaktion in der üblichen Weise angestellt.

Das Resultat zeigt die Tabelle XII.

Tabelle XII.

Menge des Extraktes ccm	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit einer Aufschwemmung von <i>Bacillus prodigiosus</i>									
	Serum I		Serum II		Serum III		Serum IV		Serum V	
	a Wärme	b Kälte	a Wärme	b Kälte	a Wärme	b Kälte	a Wärme	b Kälte	a Wärme	b Kälte
$\frac{1}{6}$ 0,25	Spch	0	0	0	Sp	0	w	0	m	Sp
0,15	w	0	Sp	0	st	Sp	m	Spch	st	w
0,1	m	Sp	st	0	fk	w	st	Sp	k	st
0	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k

Wie die Tabelle zeigt, sind die in der Kälte mit der Bakteriensuspension behandelten Sera weit stärker wassermannpositiv geworden als die in der Wärme behandelten Sera. Dabei können sich in extremen Fällen die Verhältnisse derart gestalten, daß ein Serum lediglich bei der Behandlung in der Kälte wassermannpositiv wird, während es bei der Behandlung mit der Bakteriensuspension in der Wärme seine negative Reaktion behält.

Es erschien mir nun noch von Interesse, den Einfluß der Konzentration des Serums auf die Umwandelbarkeit der Reaktion unter dem Einfluß der Bakteriensuspension zu untersuchen. Maßgebend dafür war, daß sich bei den Untersuchungen über gewisse Formen der antikomplementären Wirkung die Konzentration des die Komplementfunktion vermittelnden Meerschweinchenserums von ausschlaggebender Bedeutung für die Komplementinaktivierung erwiesen hatte. Zuerst von Sachs und Teruuchi für die Inaktivierung im salzfreien Medium nachgewiesen, erwies sich diese Abhängigkeit der Inaktivierung des Meerschweinchenkomplements von der Serumkonzentration auch für die Cobragiftinaktivierung [Sachs und Omorokow¹⁾] sowie für die Komplementinaktivierung durch gewisse Bakterien [Ritz und Sachs²⁾] als gültig. Da es sich nun bei diesen Formen der Komplementinaktivierung letzten Endes um das allgemeine Prinzip der antikomplementären Globulinwirkung handeln dürfte, um ein Prinzip also, das auch den hier von mir zu behandelnden Serumveränderungen zugrunde liegen dürfte, so erschien es mir von Interesse, die Untersuchungen über den Einfluß der Konzentration des Serums auch auf das Verhalten des Serums hinsichtlich der Umwandelbarkeit der negativen Reaktion in eine positive auszudehnen. Derartige Versuchsbeispiele zeigen die nächsten Tabellen.

Je 2,0 ccm

- 1) unverdünntes normales Menschenserum,
- 2) $\frac{1}{2}$ -fach verdünntes normales Menschenserum,

1) H. Sachs und L. Omorokow, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 11, 1911, p. 710.

2) H. Ritz und H. Sachs, Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 50, 1911, Beiheft, p. 43; Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 26, 1917, p. 483.

3) 5-fach verdünntes normales Menschenserum,

4) 10-fach „ „ „

werden in zwei parallelen Versuchshälften mit

A. 1,0 ccm einer Prodigiosus-Aufschwemmung,

B. 1,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung

24 Stunden im Eisschrank digeriert.

Hierauf werden die Gemische der Versuchshälfte A zentrifugiert und die Abgüsse sowie die Serumproben der Versuchshälfte B durch entsprechenden Kochsalzzusatz auf 20-fache Serumverdünnung gebracht.

Sodann wird die Wassermannsche Reaktion in der üblichen Weise angestellt.

Das Resultat zeigen unter Verwendung verschiedener Sera die folgenden Tabellen XIII—XV.

Tabelle XIII.

Menge des Extraktes ccm	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit							
	A. Prodigiosus-Aufschwemmung				B. physiologischer Kochsalzlösung			
	in der Serumkonzentration				in der Serumkonzentration			
	1) $\frac{1}{2}$	2) $\frac{1}{4}$	3) $\frac{1}{10}$	4) $\frac{1}{20}$	1) $\frac{1}{2}$	2) $\frac{1}{4}$	3) $\frac{1}{10}$	4) $\frac{1}{20}$
$\frac{1}{6}$ 0,25	k	st	0	0	k	k	k	k
0,15	k	st	Sp	0	k	k	k	k
0,1	k	fgk	Sp	0	k	k	k	k
0	k	k	w	0	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	k	m	0	0	k	k	k	k

Tabelle XIV.

Menge des Extraktes ccm	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit							
	A. Prodigiosus-Aufschwemmung				B. physiologischer Kochsalzlösung			
	in der Serumkonzentration				in der Serumkonzentration			
	1) $\frac{1}{2}$	2) $\frac{1}{4}$	3) $\frac{1}{10}$	4) $\frac{1}{20}$	1) $\frac{1}{2}$	2) $\frac{1}{4}$	3) $\frac{1}{10}$	4) $\frac{1}{20}$
$\frac{1}{6}$ 0,25	Sp	Sp	0	0	k	k	k	k
0,15	k	w	0	0	k	k	k	k
0,1	k	fgk	0	0	k	k	k	k
0	k	k	Spch	0	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	k	fgk	Spch	0	k	k	k	k

Tabelle XV.

Menge des Extraktes	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit							
	A. Prodigosus-Aufschwemmung				B. physiologischer Kochsalzlösung			
	in der Serumkonzentration				in der Serumkonzentration			
	1) $\frac{1}{2}$	2) $\frac{1}{4}$	3) $\frac{1}{10}$	4) $\frac{1}{20}$	1) $\frac{1}{2}$	2) $\frac{1}{4}$	3) $\frac{1}{10}$	4) $\frac{1}{20}$
ccm								
$\frac{1}{8}$ 0,25	0	0	0	0	k	k	k	k
0,15	w	0	0	0	k	k	k	k
0,1	st	Spch	0	0	k	k	k	k
0	k	fk	Spch	0	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	m	Sp	0	0	k	k	k	k

Wie sich aus den Tabellen ergibt, nimmt die Fähigkeit des normalen Serums, unter dem Einfluß der Bakteriensuspension positiv bzw. eigenhemmend zu werden, proportional der Verdünnung des Serums, also umgekehrt proportional der Serummenge zu. Die Verhältnisse liegen also hinsichtlich der Umwandelbarkeit der negativen Reaktion in die positive gerade umgekehrt wie bei der antikomplementären Funktion der Bakteriensuspension sowie bei der Entstehung einer positiven Reaktion im salzarmen Medium. Daraus jedoch auf einen prinzipiell verschiedenartigen Einfluß der Bakteriensuspension auf das Serum hinsichtlich der beiden erwähnten Serumfunktionen schließen zu wollen, dürfte jedoch wohl zunächst als unnötig erscheinen. Denn mittels der Methodik der Wassermannschen Reaktion weisen wir ja direkt die Aenderung des Dispersitätsgrades der Globuline nach. Dagegen stellt die antikomplementäre Wirkung der Bakteriensuspension einen wesentlich verwickelteren Vorgang dar. Man muß ja bei der Komplementinaktivierung durch Bakterien zwei in ihrem Wesen anscheinend verschiedene Prozesse unterscheiden, nämlich einmal die unter dem Einfluß der Bakteriensuspension erfolgende Zustandsänderung der Serumglobuline, zweitens aber die dieser folgende, also erst sekundär bewirkte antikomplementäre Funktion der in ihrer Dispersität veränderten Globuline. Es ist nun durchaus denkbar, daß die Zustandsänderung der Globuline unter

dem Einfluß der Bakteriensuspension proportional dem Verdünnungsgrad des Serums erfolgt, daß aber die zweite Phase des Vorganges, nämlich die eigentliche antikomplementäre Wirkung der veränderten Globuline, je nach dem Verdünnungsgrad des Serums variabel erscheint und bei zu starker Verdünnung des Serums sogar aufgehoben wird. Da wir nun mittels der Methodik der Wassermannschen Reaktion lediglich die erste Phase des Vorganges, nämlich die Zustandsänderung der Serumglobuline nachweisen, so erscheint es durchaus denkbar, daß die antikomplementäre Funktion dieser ersten Phase, wie sie sich im Zusammenwirken der veränderten Serumglobuline mit dem Organextrakt als positive Wassermannsche Reaktion dokumentiert, proportional der Serummenge erfolgt, daß aber die antikomplementäre Funktion, wie sie die veränderten Serumglobuline an und für sich durch sekundäre Alteration des Komplements bewirken, ihrerseits nur bei gewissen Serumkonzentrationen erfolgen kann.

Ich möchte jedoch nicht unterlassen, noch auf eine andere Möglichkeit der Deutung der erwähnten Versuchsergebnisse kurz hinzuweisen, die in Anbetracht der Erfahrungen bei der Umwandlung der Reaktion im salzarmen Medium, bei der sich ja auch im Gegensatz zur Bakterienwirkung die Konzentration des Serums von maßgebender Bedeutung erwies, noch näher zu liegen scheint. Man könnte nämlich daran denken, daß bei der Einwirkung der Bakterien auf das Serum nicht nur Veränderungen im Dispersitätsgrad der Globuline eine Rolle spielen, daß dabei vielmehr Bakterienleibessubstanzen, wahrscheinlich lipoider Natur, im Serum in Lösung gehen, die für die Änderung der Serumqualität ebenfalls von Belang sind. Daß dabei das Serum mit steigender Verdünnung in stärkerem Grad eine Umwandlung im Sinne der positiven Reaktion bzw. der Eigenhemmung erfährt, würde sich analog den Erfahrungen mit Organextrakten, Lipoiden usw. derart erklären, daß das Serum die antikomplementäre Wirkung dieser Substanzen aufzuheben vermag, daß also umgekehrt mit steigender Verdünnung des Serums die antikomplementäre Wirkung immer mehr zum Vorschein kommen muß, so daß sich die Divergenz, die sich bei den Erfahrungen mit der Bakteriensuspension

hinsichtlich der Bedeutung der Konzentration des Serums ergab, in ungezwungener Weise erklären ließe.

Wie dem aber auch sei, so bedürfen jedenfalls diese Verhältnisse einer weiteren Untersuchung, die sich insbesondere auf den Uebergang von lipoiden Bakterienleibessubstanzen in das Serum und eine dadurch bedingte Aenderung der Serumqualität erstrecken muß, Fragen, auf die meine Versuche noch keine prinzipielle Entscheidung erlauben, da sie ja zunächst lediglich der Untersuchung globulinverändernder Einflüsse und deren Bedeutung für das Entstehen einer positiven Wassermannschen Reaktion im normalen Serum galten.

III. Ueber die Umwandlung negativer Sera durch Inulinsuspensionen.

(Zugleich ein Beitrag über die Bedeutung des physikalischen Zustandes des die Umwandlung des Serums bedingenden Agens.)

Um den Einfluß, den die Behandlung normaler Sera mit Suspensionen von Bakterien, Kaolin, Stärke, Agar usw. auf die Aenderung der Reaktionsweise des menschlichen Blutserums ausübt, mit Sicherheit auf die physikalische (globulinverändernde) Wirkung der Suspensionen zurückführen zu können, erschien es notwendig, zur Behandlung der normalen Sera außer den erwähnten Substanzen noch andere Agentien heranzuziehen. Man konnte bei dem vorliegenden experimentellen Tatsachenmaterial ja immerhin annehmen, daß bei Digestion der von Hirschfeld und Klinger benutzen anorganischen und organischen Suspensionen Teile der angewandten Substanzen im Serum in Lösung gingen, die für die Aenderung der Reaktionsweise der Sera von Bedeutung waren. Wenn aber andererseits lediglich die Suspensionsnatur der angewandten Substanzen bzw. ihre physikalisch-chemische Eigenart für den Umschlag der Reaktion der Sera von wesentlicher Bedeutung war, so mußte man erwarten, daß bei der Behandlung der Seren mit der gleichen Substanz, jedoch in verschiedenem physikalischen Zustand, lediglich die Suspension, nicht aber die Lösung dieser Substanzen die Aenderung der Reaktionsweise des Serums bedingen würde. Es war also für die experimentelle Klärung der Wirkungsart der

angewandten Suspensionskolloide von Wichtigkeit, vor allem Substanzen heranzuziehen, die sich ohne erhebliche chemische Eingriffe in einen differenten physikalischen Zustand, sei es als Suspension, sei es als Lösung, bringen ließen.

Zu diesen Versuchen diente das Polysacharid Inulin, das in meinen Versuchen¹⁾ über die Bedeutung des physikalischen Zustandes für die Anaphylatoxinbildung sowie für die antikomplementäre Wirkung bereits mit Erfolg verwandt worden war.

Als Inulinpräparat zog ich wieder das „Inulin-Kahlbaum“ heran, das im kalten Wasser fast unlöslich ist, sich beim Erwärmen aber ohne Verkleisterung löst. Im allgemeinen diente als Ausgangsmaterial eine 10-proz. homogene, keine Klumpen mehr enthaltende Suspension, die durch sorgfältigstes Verreiben des Inulinpulvers mit physiologischer Kochsalzlösung in einer Reibschale hergestellt wurde. Durch 2—5 Minuten langes Erwärmen im Wasserbad von 70° unter gleichzeitigem öfteren Umschütteln ließ sich diese Suspension in eine klare Lösung überführen.

Um den Einfluß des Inulins auf den Umschlag der negativen Reaktion der Sera zu demonstrieren, wurden verschiedene Mengen der Inulinsuspension bzw. der Inulinlösung mit je 0,5 ccm aktiven normalen Menschenserum mehrere Stunden digeriert. Hierauf wurden die Gemische zentrifugiert, um das suspendierte Inulin zu entfernen. Ein Zentrifugieren der mit der Inulinlösung digerierten Menschensera erwies sich als überflüssig, da bei der Digestion der Sera mit der Inulinlösung kein Niederschlag resultierte. Hierauf wurden die Sera durch Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung auf 10-fache Serumverdünnung gebracht, und die Wassermannsche Reaktion in der üblichen Weise angestellt.

Die Einwirkung des Inulins in Suspension und Lösung auf das normale Menschenserum demonstriert das folgende Versuchsbeispiel.

Je 0,5 ccm aktiven normalen Menschenserums werden mit

- A. absteigenden Mengen (0,5—0,25—0,1—0,05—0,025—0,01 ccm) einer 10-proz. Inulinsuspension (Volumen 0,5),
- B. absteigenden Mengen (0,5—0,25—0,1—0,05—0,025—0,01 ccm) einer 10-proz. Inulinlösung (Volumen 0,5),
- C. physiologischer Kochsalzlösung (Volumen 0,5)

gemischt und 24 Stunden im Brutschrank digeriert.

Hierauf werden die Gemische der Reihe A zentrifugiert, und die Abgüsse sowie die Gemische der Reihen B und C durch entsprechenden Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung auf 10-fache Serumverdünnung gebracht.

1) E. Nathan, l. c.; H. Sachs und E. Nathan, l. c.

Sodann wird die Wassermannsche Reaktion in der üblichen Weise angestellt.

Das Resultat zeigt die Tabelle XVI.

Tabelle XVI.

Mengen des Extraktes		Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit												
		A. Inulinsuspension in den Mengen ccm						B. Inulinlösung in den Mengen ccm						C. Koch- salz- lösung
ccm		0,5	0,25	0,1	0,05	0,025	0,01	0,5	0,25	0,1	0,05	0,025	0,01	0,5
$\frac{1}{6}$ 0,25	0	0	0	Sp	Sp	Sp	st	fk	k	k	k	k	k	k
0,15	Spch	Sp	w	m	fk	k	k	k	k	k	k	k	k	k
0,1	Sp	Sp	m	fk	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
$\frac{1}{30}$ 0,25	w	w	st	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
0,15	m	m	fk	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
0,1	m	fk	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
0	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k

Wie Teil A der Tabelle zeigt, sind die mit der Inulinsuspension behandelten Serumproben wassermannspositiv geworden, während, wie sich aus Teil B der Tabelle ergibt, die mit der Inulinlösung behandelten Serumproben entweder keinen oder nur eine ganz geringe Andeutung eines Umschlages ihrer Reaktion erfahren haben¹⁾.

Gegenüber den mitgeteilten Versuchen war aber ein Einwand möglich. Man könnte nämlich noch daran denken, daß zwar die Lösung des Inulins ebenso wie die Suspension die zur Aenderung der Reaktionsweise der Sera geeignete Beschaffenheit besitzen, daß aber deren experimenteller Nachweis nicht gelingt, weil andersartige, mit der Lösung des Inulins in Aktion tretende Faktoren entweder den Umschlag der Reaktion der Sera in positivem Sinne selbst oder dessen

1) Daß auf dieses Ergebnis die Inulinsuspension und die Inulinlösung an sich ohne Einfluß sind, ergaben besondere Kontrollversuche, in denen statt des Serums Kochsalzlösung mit der Inulinsuspension und der Inulinlösung behandelt wurde, ohne dabei hemmende Funktionen anzunehmen.

Nachweis erschweren oder verhindern. Diese Möglichkeit war dadurch auszuschließen, daß das mit Inulinlösung digerierte normale Menschenserum bei nachfolgender Behandlung mit der Inulinsuspension ohne weiteres eine Aenderung seiner Reaktionsweise erfuhr, d. h. wassermannpositiv wurde, wie es das folgende Versuchsbeispiel zeigt:

Je 0,5 ccm aktives normales Menschenserum werden in zwei parallelen Versuchshälften A und B mit absteigenden Mengen einer 10-proz. Inulinlösung (0,35—0,25—0,1—0 ccm im Vol. 0,35 ccm) 12 Stunden im Brutschrank digeriert.

Hierauf erfolgt in den Röhrchen der Versuchshälfte A Zusatz von je 0,5 ccm einer 10-proz. Inulinsuspension, in den Röhrchen der Versuchshälfte B Zusatz von je 0,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung.

Nach 12-stündiger Digestion der Gemische im Brutschrank werden die Röhrchen der Versuchshälfte A zentrifugiert, und die Abgüsse sowie die Serumproben der Versuchshälfte B durch entsprechenden Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung auf 10-fache Serumverdünnung gebracht.

Sodann wird die Wassermannsche Reaktion in der üblichen Weise angestellt.

Das Resultat zeigt die Tabelle XVII.

Tabelle XVII.

Menge des Extraktes ccm	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit							
	A. Inulinsuspension				B. physiolog. Kochsalzlösung			
	und nach vorangehender Be- handlung mit Inulinlösung in den Mengen				und nach vorangehender Be- handlung mit Inulinlösung in den Mengen			
	0,35 ccm	0,25 ccm	0,1 ccm	0 ccm	0,35 ccm	0,25 ccm	0,1 ccm	0 ccm
$\frac{1}{8}$ 0,25	Spch	Spch	Spch	Spch	k	k	k	k
0,15	Sp	Sp	Sp	Sp	k	k	k	k
0,1	Sp	Sp	Sp	Sp	k	k	k	k
0	k	k	k	k	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	k	k	k	k	k	k	k	k

Wie der Versuch zeigt, hat in der Versuchshälfte A der Tabelle der Kontakt der Inulinsuspension mit dem mit verschiedenen Mengen der Inulinlösung bzw. mit Kochsalzlösung vorbehandelten Menschenserum ohne weiteres das Menschenserum derart verändert, daß es nunmehr eine positive Wassermannsche Reaktion gibt, während die nur mit

Inulinlösung behandelten Sera wassermannnegativ geblieben sind. Es ergibt sich also aus dem mitgeteilten Versuch, daß durch die Ueberführung des Inulins aus dem Suspensions- in den Lösungszustand nicht etwa andersartige, mit der Lösung des Inulins in Aktion tretende Faktoren interferieren, die den Umschlag der Reaktion der Sera oder dessen Nachweis zu verhindern oder zu erschweren vermögen.

Aus den mitgeteilten Versuchen ergibt sich also mit Notwendigkeit, daß der Umschlag der Reaktion der normalen Menschensera unter dem Einfluß der Inulinbehandlung nicht durch in Lösung gehende Bestandteile des Inulins verursacht sein kann. Denn dann hätten ja gerade die mit der Inulinlösung vorbehandelten Serumproben einen Umschlag ihrer Reaktion erkennen lassen müssen, was aber nicht der Fall war. Wie die mitgeteilten Versuche zeigen, vermochte im Gegenteil nur die Inulinsuspension die negativen Sera wassermannpositiv zu machen, d. h. die zum Auftreten einer positiven Wassermannschen Reaktion geeignete Alteration der Globuline durch physikalische Zustandsänderung des Serums zu vermitteln. Es dokumentiert sich also hier die Aenderung der Reaktionsweise der Sera unter dem Einfluß des Inulins in augenscheinlich einwandfreier Weise als eine reine Funktion des physikalischen Zustandes, in dem sich das zur Behandlung des Serums dienende Substrat befindet. Diese Ergebnisse entsprechen völlig den Erfahrungen, zu denen schon meine Untersuchungen über Anaphylatoxinbildung und antikomplementäre Wirkung unter Verwendung von Inulinsuspensionen und Inulinlösungen geführt haben. Wie bei diesen Vorgängen, so erweist sich auch bei den hier mitgeteilten Versuchen über den Umschlag der negativen Reaktion normaler Sera lediglich die Inulinsuspension als biologisch aktiv, indem sie allein kraft ihres physikalischen Zustandes zu der für den Umschlag der Reaktionsweise der Sera maßgebenden Aenderung im physikalischen Verhalten der Globuline zu führen vermag, und es ist von theoretischem Interesse, daß sich diese physikalische Aenderung der

Serumbeschaffenheit unter dem Einfluß der Inulinsuspension je nach der Versuchsanordnung als Giftigwerden des Serums, als Aufhebung der Komplementfunktion oder als positive Wassermannsche Reaktion zeigt. Es dokumentiert sich also unter dem Einfluß des Inulins in Suspension und Lösung bei meinen Versuchen über die Anaphylatoxinbildung, antikomplementäre Wirkung und Positivwerden der Sera in sinnfälliger und experimentell eindeutiger Weise die Bedeutung der Zustandsänderung der Serumglobuline, wie sie für die verschiedenen thermolabilen Serumfunktionen in reizvoller Weise neuerdings von Hirschfeld und Klinger und besonders von H. Sachs entwickelt worden ist.

IV. Ueber die Bedeutung der Serumbeschaffenheit für die Umwandelbarkeit der Reaktion.

In den vorhergehenden Abschnitten war bereits mehrfach darauf hingewiesen worden, daß sich für die Möglichkeit, menschliches Blutserum durch willkürlich erzeugte Globulinveränderung so umzuwandeln, daß es eine positive Wassermannsche Reaktion ergibt, durchaus nicht einheitliche Regeln feststellen lassen, die das Experiment in dem gewollten Sinne ohne weiteres auszuführen erlauben. Es zeigte sich vielmehr, daß erhebliche individuelle Schwankungen in der Eignung verschiedenartiger Sera bestehen, so zwar, daß bei manchen Serumproben derselbe Eingriff, der bei anderen Sera ohne weiteres zu einer positiven Wassermannschen Reaktion führt, unter den gleichen Versuchsbedingungen versagte. Auch in dieser Hinsicht darf man eine Analogie zu dem Verhalten verschiedener Meerschweinchen sera in bezug auf die Inaktivierbarkeit des Komplements im salzarmen Medium erblicken, wie denn nach den Ausführungen der vorhergehenden Abschnitte zwischen den beiden Erscheinungsformen der Veränderung biologischer Serumqualitäten ein weitgehender Parallelismus besteht. Nach alledem konnte man erwarten, daß es auch in unserem Falle gelingen würde, bei solchen Sera, die sich für die Umwandlung im Sinne der positiven

Wassermannschen Reaktion gut eignen, durch solche experimentellen Eingriffe, die nach den bisherigen Erfahrungen, wie wir heute sagen, zu einer Stabilisierung der Serumkolloide führen, gewissermaßen die Modellierfähigkeit des Serums aufzuheben, d. h. es seiner Fähigkeit, durch globulinverändernde Einflüsse wassermanns-positiv zu werden, zu berauben.

Es entspricht dieser Annahme, wenn bereits Hirschfeld und Klinger zeigen konnten, daß Inaktivieren des Serums bis zu einem gewissen Grade das Auftreten einer positiven Wassermannschen Reaktion zu verhindern vermag, eine Tatsache, die ich bestätigen und vor allem dahin erweitern kann, daß im allgemeinen schon geringfügigere thermische Einflüsse, wie Erhitzen des Serums auf 50°, die Serumbeschaffenheit derart zu verändern vermögen, daß das Serum durch Behandeln mit Inulin, Bakterien und im salzfreien Medium keine positive Wassermannsche Reaktion mehr gewinnt. Einen derartigen Versuch zeigt das nächste Versuchsbeispiel.

Je 0,5 ccm aktives normales Menschenserum werden in zwei parallelen Versuchshälften A und B auf verschiedene Temperaturen derart erwärmt, daß

- 1) je 1 Probe aktiv bleibt,
- 2) „ 1 „ $\frac{1}{2}$ Stunde auf 20°
- 3) „ 1 „ $\frac{1}{2}$ „ „ 45°
- 4) „ 1 „ $\frac{1}{2}$ „ „ 50°
- 5) „ 1 „ $\frac{1}{2}$ „ „ 52°
- 6) „ 1 „ $\frac{1}{2}$ „ „ 55°

erhitzt wird.

Hierauf werden den Serumproben der Versuchshälfte A je 0,5 ccm einer 10-proz. Inulinsuspension, den Serumproben der Versuchshälfte B je 0,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung zugesetzt.

Nach 24-stündiger Digestion der Gemische im Eisschrank werden die Röhrchen der Versuchshälfte A zentrifugiert, und die Abgüsse sowie die Serumproben der Versuchshälfte B durch entsprechenden Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung auf 10-fache Serumverdünnung gebracht.

Sodann wird die Wassermannsche Reaktion in der üblichen Weise angestellt.

Das Resultat zeigt die Tabelle XVIII.

Tabelle XVIII.

Menge des Extraktes ccm	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach der Vorbehandlung mit											
	A. Inulin-Suspension						B. physiologischer Kochsalzlösung					
	1. aktiv	und nach vorangehender Erwärmung auf					1. aktiv	und nach vorangehender Erwärmung auf				
		2. $\frac{1}{2}$, 20°	3. $\frac{1}{2}$, 45°	4. $\frac{1}{2}$, 50°	5. $\frac{1}{2}$, 52°	6. $\frac{1}{2}$, 55°		2. $\frac{1}{2}$, 20°	3. $\frac{1}{2}$, 45°	4. $\frac{1}{2}$, 50°	5. $\frac{1}{2}$, 52°	6. $\frac{1}{2}$, 55°
$\frac{1}{8}$ 0,25	Spch	Spch	Spch	k	k	k	k	k	k	k	k	k
0,15	Sp	Sp	Sp	k	k	k	k	k	k	k	k	k
0,1	Sp	w	w-m	k	k	k	k	k	k	k	k	k
0	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k

Wie Teil A des Versuches zeigt, blieben die auf 50°, 52° und 55° erhitzten Serumproben wassermann-negativ, während die aktive sowie die auf 20° und 45° erhitzten Serumproben unter dem Einfluß der Inulinsuspension eine deutliche Aenderung ihrer Reaktionsweise in positivem Sinn erkennen lassen. Daß es sich dabei nicht etwa um eine positive Reaktion des aktiven oder nicht genügend inaktivierten Serums handelt, zeigt Teil B der Tabelle, in der die entsprechenden Serumproben, nur ohne folgende Inulinbehandlung, einwandfrei negativ reagierten.

Daß die Verhältnisse bei Verwendung des salzarmen Mediums als Mittel, eine positive Wassermannsche Reaktion zu erzeugen, prinzipiell völlig gleichartig liegen, zeigt das nächste Versuchsbeispiel.

Je 0,5 ccm aktives normales Menschenserum werden in zwei parallelen Versuchsreihen A und B auf verschiedene Temperaturen derart erwärmt, daß

- 1) je eine Probe aktiv bleibt,
- 2) „ „ „ $\frac{1}{2}$ Stunde auf 20°
- 3) „ „ „ $\frac{1}{2}$ „ „ 45°
- 4) „ „ „ $\frac{1}{2}$ „ „ 50°
- 5) „ „ „ $\frac{1}{2}$ „ „ 52°
- 6) „ „ „ $\frac{1}{2}$ „ „ 55°

erhitzt wird.

Hierauf erfolgt bei den Serumproben der Reihe A Zusatz von je 8,6 ccm Aqua destillata, bei den Serumproben der Reihe B Zusatz von je 8,6 ccm physiologischer Kochsalzlösung.

Nach 24-stündiger Digestion im Eisschrank werden die Serumproben der Reihe A isotonisch gemacht, und alle Serumproben durch entsprechenden Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung derart verdünnt, daß eine 20-fache Serumverdünnung resultiert.

Sodann wird die Wassermannsche Reaktion in der üblichen Weise angestellt.

Das Resultat zeigt die Tabelle XIX.

Tabelle XIX.

Menge des Extraktes ccm	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit											
	A. Aqua destillata						B. physiologischer Kochsalzlösung					
	1. aktiv	und nach vorangehender Erwärmung auf					1. aktiv	und nach vorangehender Erwärmung auf				
		2. $\frac{1}{2}$ h 20°	3. $\frac{1}{2}$ h 45°	4. $\frac{1}{2}$ h 50°	5. $\frac{1}{2}$ h 52°	6. $\frac{1}{2}$ h 55°		2. $\frac{1}{2}$ h 20°	3. $\frac{1}{2}$ h 45°	4. $\frac{1}{2}$ h 50°	5. $\frac{1}{2}$ h 52°	6. $\frac{1}{2}$ h 55°
$\frac{1}{6}$ 0,25	Sp	Sp	Sp	k	k	k	k	k	k	k	k	k
0,15	Sp	Sp	w	k	k	k	k	k	k	k	k	k
0,1	Sp	w	fk	k	k	k	k	k	k	k	k	k
0	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k

Wie der Versuch zeigt, verhütet auch bei der Behandlung des Serums mit destilliertem Wasser die vorangehende Erwärmung des Serums auf 50° den Umschlag der negativen Reaktion in die positive.

Die Verhältnisse lagen prinzipiell analog, wenn statt des destillierten Wassers zur Umwandlung der Reaktion $\frac{1}{200}$ Normalsalzsäure-Wasser verwandt wurde, wie es das folgende Versuchsbeispiel demonstriert.

Je 0,5 ccm aktives normales Menschenserum werden in zwei parallelen Versuchsreihen A und B auf verschiedene Temperaturen derart erwärmt, daß

- 1) je eine Probe aktiv bleibt,
- 2) „ „ „ $\frac{1}{2}$ Stunde auf 20°
- 3) „ „ „ $\frac{1}{2}$ „ „ 45°
- 4) „ „ „ $\frac{1}{2}$ „ „ 50°
- 5) „ „ „ $\frac{1}{2}$ „ „ 55°

erhitzt wird.

Hierauf erfolgt bei den Serumproben der Reihe A Zusatz von je 4,0 ccm $\frac{1}{100}$ Salzsäure-Wasser, bei den Serumproben der Reihe B Zusatz von je 4,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung.

Nach 24-stündiger Digestion im Brutschrank werden die Serumproben der Reihe A unter gleichzeitiger Herstellung der Isotonie neutralisiert, und bei allen Sera durch entsprechenden Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung 10-fache Serumverdünnungen hergestellt.

Sodann wird die Wassermannsche Reaktion in der üblichen Weise angestellt.

Das Resultat zeigt die Tabelle XX.

Tabelle XX.

Menge des Extraktes	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit									
	A. Salzsäure-Wasser					B. physiolog. Kochsalzlösung				
	1. aktiv	und nach vorangehender Erwärmung auf				1. aktiv	und nach vorangehender Erwärmung auf			
		2. $\frac{1}{2}$ 20°	3. $\frac{1}{2}$ 45°	4. $\frac{1}{2}$ 50°	5. $\frac{1}{2}$ 55°		2. $\frac{1}{2}$ 20°	3. $\frac{1}{2}$ 45°	4. $\frac{1}{2}$ 50°	5. $\frac{1}{2}$ 55°
ccm										
$\frac{1}{6}$ 0,25	0	0	0	k	k	k	k	k	k	k
0,15	Sp	Sp	Sp	k	k	k	k	k	k	k
0,1	w	w	w	k	k	k	k	k	k	k
0	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k

Wie die Tabelle zeigt, verhütete die Erwärmung des Serums auf 50° den Umschlag der negativen Reaktion in die positive unter dem Einfluß des Salzsäure-Wassers. Dabei möchte ich aber besonders erwähnen, daß bei Wiederholung der Versuche mit dem salzarmen Medium der Einfluß der vorangehenden thermischen Einwirkung auf das Serum zwar qualitativ immer zutage trat, daß sich aber Temperaturdifferenzen insofern ergaben, als bei manchen Sera einerseits schon geringere thermische Einwirkungen, nämlich Erwärmung auf 45°, ausreichen konnten, um den Umschlag der Reaktion zu verhüten, und als andererseits bei manchen Sera erst die Einwirkung einer Temperatur von 55° zu einer Stabilisierung des Serums zu führen vermochte!

Nicht ganz so eindeutig verliefen, wenigstens unter den gewählten Versuchsbedingungen, die Versuche mit Bakterienaufschwemmungen. Daß allerdings bei einer Mehrzahl von

Sera die Verhältnisse prinzipiell denjenigen bei Verwendung von Inulinsuspensionen und des salzarmen Mediums entsprechen, zeigt das nächste Versuchsbeispiel.

Je 0,5 ccm aktives normales Menschenserum werden in zwei parallelen Versuchsreihen A und B auf verschiedene Temperaturen derart erwärmt, daß

- 1) je eine Probe aktiv bleibt,
- 2) „ „ „ $\frac{1}{2}$ Stunde auf 20°
- 3) „ „ „ $\frac{1}{2}$ „ „ 45°
- 4) „ „ „ $\frac{1}{2}$ „ „ 50°
- 5) „ „ „ $\frac{1}{2}$ „ „ 55°

erhitzt wird.

Hierauf werden den Röhrchen der Reihe A je 0,5 ccm einer Aufschwemmung von *Bacillus prodigiosus*, den Röhrchen der Reihe B je 0,5 ccm physiologische Kochsalzlösung zugesetzt.

Nach 24-stündiger Digestion der Gemische im Eisschrank werden die Röhrchen der Reihe A zentrifugiert, und die Abgüsse sowie die Serumproben der Reihe B durch entsprechenden Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung auf 10-fache Serumverdünnung gebracht.

Sodann wird die Wassermannsche Reaktion in der üblichen Weise angestellt.

Das Resultat zeigt die Tabelle XXI.

Tabelle XXI.

Menge des Extraktes ccm	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit									
	A. Prodigiosus-Aufschwemmung					B. physiolog. Kochsalzlösung				
	1. aktiv	und nach vorangehender Erwärmung auf				1. aktiv	und nach vorangehender Erwärmung auf			
		2. $\frac{1}{2}^h 20^{\circ}$	3. $\frac{1}{2}^h 45^{\circ}$	4. $\frac{1}{2}^h 50^{\circ}$	5. $\frac{1}{2}^h 55^{\circ}$		2. $\frac{1}{2}^h 20^{\circ}$	3. $\frac{1}{2}^h 45^{\circ}$	4. $\frac{1}{2}^h 50^{\circ}$	5. $\frac{1}{2}^h 55^{\circ}$
$\frac{1}{8}$ 0,25	0	0	0	st	k	k	k	k	k	k
0,15	0	0	0	fk	k	k	k	k	k	k
0,1	0	Spch	Spch	k	k	k	k	k	k	k
0	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k

Wie Teil A der Tabelle zeigt, sind die aktive sowie die auf 20° und 45° erhitzten Serumproben unter dem Einfluß der Behandlung mit der *Prodigiosus*aufschwemmung wassermannpositiv ge-

worden, während die stärker erhitzten Serumproben keinen Umschlag ihrer negativen Reaktion in eine positive erfahren haben. Daß es sich dabei um ein einwandfrei negatives Serum handelt, zeigt Teil B der Tabelle.

In anderen Versuchen blieb die thermische Vorbehandlung des Serums jedoch gegenüber der Bakteriensuspension nur von geringerem oder ohne Einfluß, wie die nächsten Versuchsbeispiele demonstrieren.

Vorbehandlung der Sera wie im vorangehenden Versuch.

Tabelle XXII.

Menge des Extraktes ccm	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit									
	A. Prodigiosus-Aufschwemmung					B. physiolog. Kochsalzlösung				
	und nach vorangehender Erwärmung auf					und nach vorangehender Erwärmung auf				
	1. aktiv	2. $\frac{1}{2}^b 20^\circ$	3. $\frac{1}{2}^b 45^\circ$	4. $\frac{1}{2}^b 50^\circ$	5. $\frac{1}{2}^b 55^\circ$	1. aktiv	2. $\frac{1}{2}^b 20^\circ$	3. $\frac{1}{2}^b 45^\circ$	4. $\frac{1}{2}^b 50^\circ$	5. $\frac{1}{2}^b 55^\circ$
$\frac{1}{6}$ 0,25	0	0	0	Spch	w	k	k	k	k	k
0,15	0	0	0	Sp	st	k	k	k	k	k
0,1	0	0	0	w	fk	k	k	k	k	k
0	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k

Tabelle XXIII.

Menge des Extraktes ccm	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit									
	A. Prodigiosus-Aufschwemmung					B. physiolog. Kochsalzlösung				
	und nach vorangehender Erwärmung auf					und nach vorangehender Erwärmung auf				
	1. aktiv	2. $\frac{1}{2}^b 20^\circ$	3. $\frac{1}{2}^b 45^\circ$	4. $\frac{1}{2}^b 50^\circ$	5. $\frac{1}{2}^b 55^\circ$	1. aktiv	2. $\frac{1}{2}^b 20^\circ$	3. $\frac{1}{2}^b 45^\circ$	4. $\frac{1}{2}^b 50^\circ$	5. $\frac{1}{2}^b 55^\circ$
$\frac{1}{6}$ 0,25	0	0	0	0	0	k	k	k	k	k
0,15	0	0	0	0	0	k	k	k	k	k
0,1	0	0	0	0	Spch	k	k	k	k	k
0	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k

Tabelle XXIV.

Menge des Extraktes ccm	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit									
	A. Prodigiosus-Aufschwemmung					B. physiolog. Kochsalzlösung				
	1. aktiv	und nach vorangehender Erwärmung auf				1. aktiv	und nach vorangehender Erwärmung auf			
		2. $\frac{1}{2}$ 20°	3. $\frac{1}{2}$ 45°	4. $\frac{1}{2}$ 50°	5. $\frac{1}{2}$ 55°		2. $\frac{1}{2}$ 20°	3. $\frac{1}{2}$ 45°	4. $\frac{1}{2}$ 50°	5. $\frac{1}{2}$ 55°
$\frac{1}{8}$ 0,25	0	0	0	0	0	k	k	k	k	k
0,15	0	0	0	0	0	k	k	k	k	k
0,1	0	0	0	0	0	k	k	k	k	k
0	Sp	Sp	w	w	w	k	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	Sp	Sp	Sp	Sp	w	k	k	k	k	k

Wie die Tabellen zeigen, erwies sich die vorangehende thermische Einwirkung auf das Serum hinsichtlich der Bakterienwirkung entweder von geringem oder ohne Einfluß. Während, wie die Tabelle XXII zeigt, der vorangehende Wärmeeingriff bei diesem Versuch noch von deutlicher Einwirkung auf das Serum ist, wenn es auch zu keiner völligen Resistenz des Serums kam, sind in den folgenden Versuchen, wie sich aus den Tabellen XXIII und XXIV ergibt, sowohl die aktiven wie die inaktivierten Serumproben unter dem Einfluß der Bakteriensuspension wassermannpositiv bzw. eigenhemmend geworden. Wenn man die Ausführungen berücksichtigt, die ich im Abschnitt II über den Einfluß der Bakteriensuspension auf das Serum gemacht habe, und die die Möglichkeit betrafen, daß bei der Bakterienwirkung außer dem globulinverändernden Einfluß auch noch eine Einwirkung lipoider Bakterienprodukte auf das Serum interferierte¹⁾, so würde diese Anschauung mit den hier erwähnten Beobachtungen in gutem Einklang stehen. Denn wenn das Serum auch durch den thermischen Eingriff gegenüber der globulinfällenden Wirkung der Bakterien resistent geworden war, so konnte sich diese Resistenz nicht auf den gleichzeitig interferierenden Einfluß der antikomplementär wirkenden Lipide erstrecken, so daß die Differenz, die hinsichtlich der thermischen Beeinflussung des Serums gegenüber dem Inulin und dem salzarmen Medium einerseits,

1) Ueber die Ergebnisse dieser Versuche wird in einer zweiten Mitteilung berichtet werden.

der Bakterienwirkung andererseits besteht, auf Grund dieser Anschauung dem Verständnis ohne weiteres zugänglich ist¹⁾.

Wie die mitgeteilten Versuche zeigen, gelingt es also, in Uebereinstimmung mit den Angaben von Hirschfeld und Klinger das Serum durch Erhitzen auf 50° derart zu verändern, daß es unter dem Einfluß globulinverändernder Mittel keine experimentell erzeugbare positive Wassermannsche Reaktion mehr gewinnt. Es handelt sich hier also um die gleichen Eingriffe, die, wie Sachs und Teruuchi in ihren Untersuchungen gezeigt haben, die Inaktivierbarkeit des Meerschweinchenkomplements im salzarmen Medium aufzuheben vermögen.

Bei dieser Analogie, die zwischen den verschiedenen thermolabilen Serumfunktionen hinsichtlich der vermittelnden Rolle der Globulinwirkung besteht, war es nun zu erwarten, daß es auch noch auf andere Weise gelingen würde, die Serumbeschaffenheit derart zu verändern, daß eine experimentelle Erzeugung einer positiven Wassermannschen Reaktion nicht mehr möglich ist. Wie nämlich die Untersuchungen von Ritz und Sachs sowie von Nathan gezeigt haben, gelingt es bei den verschiedenen Formen der Komplementinaktivierung, die indirekt, d. h. infolge einer Zustandsänderung der Serumglobuline bedingt sind, die Inaktivierbarkeit des Meerschweinchenkomplements durch gewisse Eingriffe aufzuheben. Es genügt dazu, das Serum einer kurzdauernden Einwirkung von Salzsäure oder Natronlauge zu unterziehen, um die Inaktivierbarkeit des Komplements durch Bakterien (Ritz und Sachs) sowie durch Cobragift und im salzarmen Medium (Nathan) völlig aufzuheben. Die gleiche Veränderung der Serumglobuline also, die in den Versuchen von Sachs und Teruuchi über die Inaktivierung des Komplements im salzarmen Medium das Erwärmen des Serums herbeiführte, vermochte bei diesen Versuchen die Einwirkung der Salzsäure und der Natronlauge auf das Serum zu vermitteln.

Es erschien nun von nicht geringem Interesse, zu untersuchen, ob auch die Einwirkung der Salzsäure und Natron-

1) In diesem Sinn spricht auch, daß bei den zuletzt mitgeteilten Versuchen (Tabelle XXII—XXIV) ein anderer Prodigiosusstamm zur Verwendung kam als bei dem ersten Versuch (Tabelle XXI).

lange die Serumbeschaffenheit derart zu verändern vermochte, daß das Serum der Erzeugung einer positiven Wassermannschen Reaktion nicht mehr zugänglich war. Daß dem tatsächlich so ist, zeigt das nächste Versuchsbeispiel.

Je 0,5 ccm normalen aktiven Menschenserums werden in zwei parallelen Versuchshälften A und B mit

- 1) 0,5 ccm $\frac{1}{5}$ Normalsalzsäure,
- 2) 0,5 „ $\frac{1}{10}$ „
- 3) 0,5 „ $\frac{1}{20}$ „
- 4) 0,5 „ $\frac{1}{50}$ „
- 5) 0,5 „ $\frac{1}{5}$ Normalnatronlauge,
- 6) 0,5 „ $\frac{1}{10}$ „
- 7) 0,5 „ $\frac{1}{20}$ „
- 8) 0,5 „ $\frac{1}{50}$ „
- 9) 0,5 „ physiologischer Kochsalzlösung

1 Stunde lang im Brutschrank digeriert. Sodann werden die Gemische mit den entsprechenden Mengen Natronlauge bzw. Salzsäure (Vol. 0,5 ccm) neutralisiert.

Hierauf erfolgt in jedem Röhrchen

der Versuchshälfte A Zusatz von je 0,5 ccm Prodigiosus-Aufschwemmung,

der Versuchshälfte B Zusatz von je 0,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung.

Nach 3-stündigem Aufenthalt der Gemische im Eisschrank werden die Serumproben der Reihe A zentrifugiert, und die Abgüsse sowie die Serumproben der Versuchshälfte B durch Zusatz entsprechender Mengen physiologischer Kochsalzlösung auf 10-fache Serumverdünnung gebracht.

Sodann wird die Wassermannsche Reaktion in der üblichen Weise angestellt.

Das Resultat zeigt die Tabelle XXV.

Tabelle XXV.
Versuchshälfte A.

Menge des Extraktes	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit einer Prodigiosus-Aufschwemmung und								
	nach vorangehender Behandlung mit								9) NaCl
	Normalsalzsäure in der Verdünnung				Normalnatronlauge in der Verdünnung				
	1) $\frac{1}{5}$	2) $\frac{1}{10}$	3) $\frac{1}{20}$	4) $\frac{1}{50}$	5) $\frac{1}{5}$	6) $\frac{1}{10}$	7) $\frac{1}{20}$	8) $\frac{1}{50}$	
ccm									
$\frac{1}{5}$ 0,25	k	k	0	0	k	k	0	0	0
0,15	k	k	0	0	k	k	0	0	0
0,1	k	k	0	0	k	k	0	0	0
0	k	k	k	k	k	k	fk	k	k
doppelte Serumkontrolle	k	k	k	k	k	k	m	m	k

Versuchshälfte B.

Menge des Extraktes ccm	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit physiologischer Kochsalzlösung und								
	nach vorangehender Behandlung mit								
	Normalsalzsäure in der Verdünnung				Normalnatronlauge in der Verdünnung				9) NaCl
	1) $\frac{1}{5}$	2) $\frac{1}{10}$	3) $\frac{1}{20}$	4) $\frac{1}{50}$	5) $\frac{1}{5}$	6) $\frac{1}{10}$	7) $\frac{1}{20}$	8) $\frac{1}{50}$	
$\frac{1}{5}$ 0,25	k	k	k	k	k	k	k	k	k
0,15	k	k	k	k	k	k	k	k	k
0,1	k	k	k	k	k	k	k	k	k
0	k	k	k	k	k	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	k	k	k	k	k	k	k	k	k

Wie die Versuchshälfte A der Tabelle zeigt, hat die Vorbehandlung des Menschenserums sowohl mit Salzsäure als auch mit Natronlauge dazu geführt, das Auftreten einer positiven Reaktion des Serums unter dem Einfluß der Bakterienbehandlung zu verhindern. Dazu genügte die Einwirkung von $\frac{1}{5}$ und $\frac{1}{10}$ Normalsalzsäure und Natronlauge, während geringere Mengen der Salzsäure und Natronlauge keinen Einfluß auf die Aenderung der Reaktionsweise des Serums mehr erkennen lassen. Daß es sich dabei um ein auch im aktiven Zustand einwandfrei negatives Serum handelt, zeigt die Versuchshälfte B der Tabelle, in der das Menschenserum anstatt mit der Prodigiosus-Aufschwemmung mit Kochsalzlösung gemischt worden war.

Während in den mitgeteilten Versuchen die Salzsäure und die Natronlauge sich in gleicher Weise wirksam erwiesen, ergab sich in anderen Versuchen ein stärkerer Einfluß der Salzsäure. Doch war das Versuchsergebnis nicht in allen Versuchen in einwandfreier Weise festzustellen, da die Vorbehandlung des Menschenserums mit Natronlauge, wie in der Einleitung bereits erwähnt, in manchen Fällen dazu führt, dem Serum entweder eine schwach positive Wassermannsche Reaktion oder sogar eigenhemmende Funktionen zu verleihen.

Daß die Vorbehandlung des Menschenserums mit Salzsäure und Natronlauge das Serum auch der Einwirkung des salzfreien Mediums hinsichtlich eines Umschlages der Reaktion zu entziehen vermag, zeigt das folgende Versuchsbeispiel, bei

dem nur, um das Serum mit Sicherheit positiv zu machen, nicht destilliertes Wasser, sondern $\frac{1}{200}$ Normalsalzsäure-Wasser zur Verwendung kam.

Je 0,5 ccm normales aktives Menschenserum werden in zwei parallelen Versuchshälften A und B mit

- 1) 0,25 ccm $\frac{1}{5}$ Normalsalzsäure,
- 2) 0,25 „ $\frac{1}{10}$ „
- 3) 0,25 „ $\frac{1}{20}$ „
- 4) 0,25 „ $\frac{1}{50}$ „
- 5) 0,25 „ $\frac{1}{5}$ Normalnatronlauge
- 6) 0,25 „ $\frac{1}{10}$ „
- 7) 0,25 „ $\frac{1}{20}$ „
- 8) 0,25 „ $\frac{1}{50}$ „
- 9) 0,25 „ Aqua dest.

1 Stunde in Brutschrank bei 37° digeriert. Sodann wird mit den entsprechenden Mengen Normalnatronlauge bzw. Normalsalzsäure (Vol. 0,25) neutralisiert. Dabei waren die Salzsäure- und Natronlaugeverdünnungen der Versuchshälfte A in Aqua destillata, die der Versuchshälfte B in physiologischer Kochsalzlösung hergestellt.

Hierauf erfolgt in jedem Röhrchen der Versuchshälfte

A. Zusatz von je 3,6 ccm $\frac{1}{200}$ HCl-Wasser,

B. Zusatz von je 3,6 ccm physiolog. Kochsalzlösung.

Nach 24-stündiger Digestion im Brutschrank werden die Serumproben der Versuchshälfte A unter gleichzeitiger Herstellung der Isotonie neutralisiert, und alle Röhrchen durch entsprechenden Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung auf 10-fache Serumverdünnung gebracht.

Hierauf erfolgt die Anstellung der Wassermannschen Reaktion in der üblichen Weise.

Das Resultat zeigen die folgenden Tabellen XXVI A und B.

Tabelle XXVI.

Versuchshälfte A.

Menge des Extraktes	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit $\frac{1}{200}$ Normalsalzsäure-Wasser und									
	nach vorangehender Behandlung mit									
	Normalsalzsäure in der Verdünnung				Normalnatronlauge in der Verdünnung				9) Aqua dest.	
	1) $\frac{1}{5}$	2) $\frac{1}{10}$	3) $\frac{1}{20}$	4) $\frac{1}{50}$	5) $\frac{1}{5}$	6) $\frac{1}{10}$	7) $\frac{1}{20}$	8) $\frac{1}{50}$		
ccm										
$\frac{1}{5}$ 0,25	k	0	0	6	fk	0	0	0	0	
0,15	k	0	0	0	k	0	0	0	0	
0,1	k	0	0	0	k	0	0	0	0	
0	k	fk	fk	fk	k	fk	fk	fk	fk	
doppelte Serum- kontrolle	k	0	0	0	k	0	0	0	0	

18*

Versuchshälfte B.

Menge des Extraktes ccm	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit physiologischer Kochsalzlösung und								
	nach vorangehender Behandlung mit								9) NaCl
	Normalsalzsäure in der Verdünnung				Normalnatronlauge in der Verdünnung				
	1) $\frac{1}{5}$	2) $\frac{1}{10}$	3) $\frac{1}{20}$	4) $\frac{1}{50}$	5) $\frac{1}{5}$	6) $\frac{1}{10}$	7) $\frac{1}{20}$	8) $\frac{1}{50}$	
$\frac{1}{5}$ 0,25	k	k	k	k	k	k	k	k	k
0,15	k	k	k	k	k	k	k	k	k
0,1	k	k	k	k	k	k	k	k	k
0	k	k	k	k	k	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	k	k	k	k	k	k	k	k	k

Wie die Tabelle zeigt, ist nur bei den mit $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{20}$ und $\frac{1}{50}$ Normalsalzsäure und Normalnatronlauge vorbehandelten Serumproben ein Umschlag der negativen Reaktion in eine positive unter dem Einfluß des Salzsäurewassers eingetreten, während die Vorbehandlung mit $\frac{1}{5}$ Normalsalzsäure und Natronlauge das Serum vor dem Umschlag der negativen Reaktion in die positive zu schützen vermochte.

Dabei möchte ich noch besonders darauf hinweisen, daß, wie die Tabelle zeigt, nicht nur das Positivwerden des Serums, sondern auch das Entstehen von Eigenhemmungen durch die vorangehende Salzsäure- und Natronlaugevorbehandlung des Serums verhütet wird. Auch diese Beobachtungen sprechen für die prinzipielle Identität der positiven Wassermannschen Reaktion des aktiven Serums und der Eigenhemmung, wie es bereits vorher von uns bei den Untersuchungen über das Positiv- bzw. Eigenhemmendwerden der Sera im salzfreien Medium diskutiert worden ist, und zeigen aufs neue, daß es sich dabei nur um zwei verschiedene Grade eines qualitativ gleichartigen Vorgangs handelt.

Bei den mitgeteilten Versuchen gelang es also, durch Salzsäure- und Natronlaugeeinwirkung auf das Serum dieselbe Veränderung der Serumbe-

schaffenheit zu erzielen, die durch Erwärmen des Serums zu erreichen ist. Die Fähigkeit des negativen Menschenserums, durch Behandeln mit einer Bacillenaufschwemmung oder im salzfreien Medium eine positive Wassermannsche Reaktion zu gewinnen, wird nicht nur durch Erwärmen des Serums, sondern auch durch Salzsäure- und Natronlaugeeinwirkung aufgehoben. Die Serumglobuline werden durch diese Eingriffe der fällenden Wirkung der Bacillensuspension sowie des salzfreien Mediums gegenüber resistent, „stabil“. Diese Beobachtungen entsprechen also völlig dem Verhalten des Meerschweinchen-serums hinsichtlich der Inaktivierbarkeit seines Komplementgehalts durch salzfreies Medium, Bakterien und Cobragift und demonstrieren ebenfalls wieder die weitgehende Analogie, die zwischen den verschiedenen an die Globulinfraktion bzw. an deren Zustandsänderungen gebundenen Serumfunktionen besteht.

V. Ueber die Thermolabilität der positiven Reaktion umgewandelter Sera.

Im Anschluß an die im vorigen Abschnitt mitgeteilten Versuche, die den Einfluß der Serumbeschaffenheit für die Eignung des Serums dokumentierten, eine Aenderung seiner Reaktion zu erfahren, mußte es auch von Interesse erscheinen, zu untersuchen, wie sich die im Serum experimentell erzeugte positive Reaktion denjenigen Eingriffen gegenüber verhält, die zu einer Stabilisierung der Globuline zu führen vermögen. Es war also zu untersuchen, ob das Serum, nachdem es durch Behandlung mit der Inulinsuspension, im salzfreien Medium und der Bakteriensuspension positiv geworden war, diese positive Reaktion durch Erwärmen wieder verlieren kann. Daß dem tatsächlich so ist, zeigt das nächste Versuchsbeispiel.

Je 0,5 ccm aktiven normalen Menschenserums werden in zwei parallelen Reihen

A. mit je 0,5 ccm 10-proz. Inulinsuspension,

B. mit 0,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung

12 Stunden im Eisschrank digeriert.

Nach Abzentrifugieren der Inulinsuspension in den Röhrchen der Reihe A werden die Abgüsse, sowie die Serumprobe der Reihe B derart erwärmt, daß

- 1) je eine Probe aktiv bleibt,
- 2) " " " $\frac{1}{2}$ Stunde auf 20°
- 3) " " " $\frac{1}{2}$ " " 45°
- 4) " " " $\frac{1}{2}$ " " 50°
- 5) " " " $\frac{1}{2}$ " " 52°

erhitzt werden.

Sodann erfolgt nach Herstellung 10-facher Serumverdünnung durch entsprechenden Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung die Anstellung der Wassermannschen Reaktion.

Das Resultat zeigt die Tabelle XXVII.

Tabelle XXVII.

Menge des Extraktes	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit									
	A. Inulin-Suspension					B. physiolog. Kochsalzlösung				
	und hierauf folgender Erwärmung auf					und hierauf folgender Erwärmung auf				
	1. aktiv	2. $\frac{1}{2}$ h 20°	3. $\frac{1}{2}$ h 45°	4. $\frac{1}{2}$ h 50°	5. $\frac{1}{2}$ h 52°	1. aktiv	2. $\frac{1}{2}$ h 20°	3. $\frac{1}{2}$ h 45°	4. $\frac{1}{2}$ h 50°	5. $\frac{1}{2}$ h 52°
ccm										
$\frac{1}{6}$ 0,25	Spch	Spch	Spch	k	k	k	k	k	k	k
0,15	Sp	Sp	w	k	k	k	k	k	k	k
0,1	Sp	w	m	k	k	k	k	k	k	k
0	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k

Wie Teil A der Tabelle zeigt, wurde durch $\frac{1}{2}$ -ständiges Erwärmen des Serums auf 50° die durch Behandeln mit einer Inulinsuspension erzeugte positive Wassermannsche Reaktion wieder zerstört, während die aktive sowie die auf 20 und 45° erhitzten Serumproben keine bzw. nur eine geringgradige Beeinflussung ihrer positiven Reaktion erfuhren. Daß es sich dabei nicht etwa um eine Thermoinaktivierung einer schwach positiven, an die Aktivität des Serums geknüpften Reaktion handelt, zeigt Teil B der Tabelle. Die gleiche Temperatur also, die die Serumbeschaffenheit derart verändert, daß das Serum durch Behandlung mit der Inulinsuspension keine posi-

tive Reaktion mehr gewinnen kann, ist auch imstande, die im aktiven Serum erzeugte positive Reaktion wieder zu zerstören.

In gleicher Weise ließ sich auch die durch Einwirken des salzarmen Mediums erzeugte positive Wassermannsche Reaktion durch Wärmeeinwirkung wieder zerstören, wie es das folgende Versuchsbeispiel zeigt.

Je 1,0 ccm aktiven normalen Menschenserums werden mit

A. 8,0 ccm $\frac{1}{200}$ Normalsalzsäure-Wasser,

B. 8,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung

24 Stunden im Brutschrank digeriert. Sodann wird die Serumprobe A unter gleichzeitiger Herstellung der Isotonie neutralisiert, und beide Serumproben durch Zusatz der entsprechenden Mengen physiologischer Kochsalzlösung auf 10-fache Serumverdünnung gebracht.

Hierauf wird jede der beiden Serumverdünnungen in 5 Teile à 2 ccm verteilt. Von diesen Teilen wird je eine Probe jeder Serumverdünnung auf verschiedene Temperaturen derart erwärmt, daß

- 1) je eine Probe aktiv bleibt,
- 2) „ „ „ $\frac{1}{2}$ Stunde auf 20°
- 3) „ „ „ $\frac{1}{2}$ „ „ 45°
- 4) „ „ „ $\frac{1}{2}$ „ „ 50°
- 5) „ „ „ $\frac{1}{2}$ „ „ 55°

erhitzt wird. Hierauf erfolgt die Anstellung der Wassermannschen Reaktion in der üblichen Weise.

Das Resultat zeigt die Tabelle XXVIII.

Tabelle XXVIII.

Menge des Extraktes ccm	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit									
	A. $\frac{1}{200}$ Normalsalzsäure-Wasser					B. physiolog. Kochsalzlösung				
	1. aktiv	und hierauf folgender Erwärmung auf				1. aktiv	und hierauf folgender Erwärmung auf			
		2. $\frac{1}{2}$ h 20°	3. $\frac{1}{2}$ h 45°	4. $\frac{1}{2}$ h 50°	5. $\frac{1}{2}$ h 55°		2. $\frac{1}{2}$ h 20°	3. $\frac{1}{2}$ h 45°	4. $\frac{1}{2}$ h 50°	5. $\frac{1}{2}$ h 55°
$\frac{1}{2}$ 0,25	0	0	Sp	k	k	k	k	k	k	k
0,15	0	0	Sp	k	k	k	k	k	k	k
0,1	Sp	Sp	m	k	k	k	k	k	k	k
0	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k

Wie die Tabelle zeigt, ist auch die durch die Behandlung des Serums mit $\frac{1}{200}$ Normalsalzsäure im salzfreien Medium entstandene positive Wassermannsche Reaktion durch die Erwärmung auf

50° zerstört worden, während die Erwärmung auf 20° und 45° ohne oder nur von geringem Einfluß war. Daß es sich auch bei diesem Versuch um ein im aktiven Zustand einwandfrei negativ reagierendes Serum handelt, zeigt Teil B der Tabelle.

Dabei möchte ich aber besonders erwähnen, daß zwar die durch Behandeln der normalen Sera im salzarmen Medium erzeugte positive Reaktion sich immer als thermolabil erwies, daß aber bei den einzelnen Sera quantitative Differenzen insofern zur Beobachtung kamen, als die positive Reaktion der meisten Sera durch Erwärmen auf 50° zerstört wurde, daß aber andererseits vereinzelte Sera ihre positive Reaktion schon bei einer Temperatur von 45°, andere dagegen erst bei einer Temperatur von 55° einbüßten. Die Verhältnisse liegen also analog den Beobachtungen, über die ich im vorangehenden Kapitel berichtet habe, und die zeigten, daß auch die der Einwirkung der globulinverändernden Mittel vorangehende thermische Beeinflussung, die ja zu einer Aenderung der Serumbeschaffenheit im Sinne der Stabilisierung der Serumkolloide führt, nicht an einen absoluten und kritischen Wärme-grad gebunden ist, sondern Schwankungen zwischen 45° und 55° aufweisen kann, wenn sich allerdings zumeist auch hierbei die Temperatur von 50° als die geeignetste erwies. Diese Verhältnisse dürften eine befriedigende Erklärung in der Annahme finden, daß die Dispersität der Serumglobuline in ihrer Aenderung unter dem Einfluß globulinverändernder Momente von individuellen Faktoren des Serums bis zu einem gewissen Grade abhängig ist.

In gleicher Weise ließ sich nun, wenigstens bei einer größeren Anzahl von Sera, auch die durch Einwirkung einer Bakteriensuspension auf das normale Serum erzeugte positive Wassermannsche Reaktion durch thermische Eingriffe wieder zerstören, wie es das folgende Versuchsbeispiel demonstriert.

Je 0,25 ccm aktiven normalen Menschenserums werden in zwei parallelen Reihen,

A. mit je 0,2 ccm einer Prodigiosusaufschwemmung,

B. mit je 0,2 ccm physiologischer Kochsalzlösung

8 Stunden im Brutschrank bei 37° digeriert.

Hierauf werden die die Bakterienaufschwemmung enthaltenden Röhrchen zentrifugiert, und die Abgüsse sowie die Serumproben der Reihe B durch Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung auf 10-fache Serumverdünnung gebracht.

Sodann werden alle Serumproben derart erwärmt, daß

- 1) je eine Probe aktiv bleibt,
- 2) „ „ „ $\frac{1}{2}$ Stunde auf 20°
- 3) „ „ „ $\frac{1}{2}$ „ „ 45°
- 4) „ „ „ $\frac{1}{2}$ „ „ 50°
- 5) „ „ „ $\frac{1}{2}$ „ „ 55°

erhitzt wird.

Hierauf wird die Wassermannsche Reaktion in der üblichen Weise angestellt.

Das Resultat zeigt die Tabelle XXIX.

Tabelle XXIX.

Menge des Extraktes ccm	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit									
	A. Prodigiosus-Aufschwemmung					B. physiolog. Kochsalzlösung				
	1. aktiv	und hierauf folgender Erwärmung auf				1. aktiv	und hierauf folgender Erwärmung auf			
		2. $\frac{1}{9}$ h 20°	3. $\frac{1}{2}$ h 45°	4. $\frac{1}{2}$ h 50°	5. $\frac{1}{2}$ h 55°		2. $\frac{1}{9}$ h 20°	3. $\frac{1}{2}$ h 45°	4. $\frac{1}{2}$ h 50°	5. $\frac{1}{2}$ h 55°
$\frac{1}{6}$ 0,25	0	0	0	fk	k	k	k	k	k	k
0,15	0	0	0	k	k	k	k	k	k	k
0,1	0	0	Sp	k	k	k	k	k	k	k
0	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k

Wie Teil A der Tabelle zeigt, ist die unter dem Einfluß der Bakterienaufschwemmung entstandene positive Reaktion durch Erwärmen des Serums wieder völlig aufgehoben worden. Daß es sich dabei nicht etwa um eine Thermoinaktivierung einer positiven, an die Aktivität des Serums gebundenen Reaktion handelt, zeigt Teil B der Tabelle, aus dem sich ergibt, daß das Serum ohne Bakterienbehandlung auch im aktiven Zustand einwandfrei negativ reagierte.

Es soll jedoch nicht unerwähnt bleiben, daß gerade bei der Verwendung von Bakterien als Mittel, ein negatives

Serum wassermannpositiv zu machen, die erzielte positive Reaktion keineswegs immer sich als thermolabil erwies. In einer größeren Anzahl von Versuchen, insbesondere bei Verwendung eines zweiten *Prodigosus*stammes, erwies sich die erzielte positive Wassermannsche Reaktion als mehr oder weniger thermostabil, wie die folgenden Versuchsprotokolle zeigen mögen.

Vorbehandlung der Sera wie im vorangehenden Versuch.

Tabelle XXX.

Menge des Extraktes	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit									
	A. <i>Prodigosus</i> -Aufschwemmung					B. physiolog. Kochsalzlösung				
	1. aktiv	und hierauf folgender Erwärmung auf				1. aktiv	und hierauf folgender Erwärmung auf			
		2. $\frac{1}{2}^{\circ} 20^{\circ}$	3. $\frac{1}{2}^{\circ} 45^{\circ}$	4. $\frac{1}{2}^{\circ} 50^{\circ}$	5. $\frac{1}{2}^{\circ} 55^{\circ}$		2. $\frac{1}{2}^{\circ} 20^{\circ}$	3. $\frac{1}{2}^{\circ} 45^{\circ}$	4. $\frac{1}{2}^{\circ} 50^{\circ}$	5. $\frac{1}{2}^{\circ} 55^{\circ}$
ccm										
$\frac{1}{8}$ 0,25	0	0	0	0	0	k	k	k	k	k
0,15	0	0	0	0	0	k	k	k	k	k
0,1	0	0	0	0	Spch	k	k	k	k	k
1	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k

Tabelle XXXI.

Menge des Extraktes	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit									
	A. <i>Prodigosus</i> -Aufschwemmung					B. physiolog. Kochsalzlösung				
	1. aktiv	und hierauf folgender Erwärmung auf				1. aktiv	und hierauf folgender Erwärmung auf			
		2. $\frac{1}{2}^{\circ} 20^{\circ}$	3. $\frac{1}{2}^{\circ} 45^{\circ}$	4. $\frac{1}{2}^{\circ} 50^{\circ}$	5. $\frac{1}{2}^{\circ} 55^{\circ}$		2. $\frac{1}{2}^{\circ} 20^{\circ}$	3. $\frac{1}{2}^{\circ} 45^{\circ}$	4. $\frac{1}{2}^{\circ} 50^{\circ}$	5. $\frac{1}{2}^{\circ} 55^{\circ}$
ccm										
$\frac{1}{8}$ 0,25	0	0	0	Spch	w	k	k	k	k	k
0,15	0	0	0	Sp	st	k	k	k	k	k
0,1	0	0	0	w	fk	k	k	k	k	k
0	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	st	fk	k	k	k	k	k	k	k	k

Tabelle XXXII.

Menge des Extraktes ccm	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit									
	A. Prodigiosus-Aufschwemmung					B. physiolog. Kochsalzlösung				
	1. aktiv	und hierauf folgender Erwärmung auf				1. aktiv	und hierauf folgender Erwärmung auf			
		2. $\frac{1}{2}$ h 20°	3. $\frac{1}{2}$ h 45°	4. $\frac{1}{2}$ h 50°	5. $\frac{1}{2}$ h 55°		2. $\frac{1}{2}$ h 20°	3. $\frac{1}{2}$ h 45°	4. $\frac{1}{2}$ h 50°	5. $\frac{1}{2}$ h 55°
$\frac{1}{4}$ 0,25	0	0	0	0	0	k	k	k	k	k
0,15	0	0	0	0	0	k	k	k	k	k
0,1	0	0	0	0	0	k	k	k	k	k
0	0	0	0	Spch	Sp	k	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	0	0	0	0	0	k	k	k	k	k

Wie die Tabellen zeigen, erwies sich die unter dem Einfluß der Bakteriensuspension entstandene positive Wassermannsche Reaktion bzw. die entstandene Eigenhemmung als thermostabil. Dabei handelt es sich, worauf ich besonders hinweisen möchte, um die gleichen Sera, die, wie im vorangehenden Abschnitt gezeigt worden ist, bei vorangehender thermischer Beeinflussung auch keine Resistenz gegenüber der Bakterienwirkung gewonnen hatten, d. h. also, auch bei vorheriger Inaktivierung unter dem Einfluß der Bakteriensuspension wassermannspositiv wurden. Die gleichen Sera also, die trotz der vorangehenden, eine Stabilisierung der Serumkolloide bewirkenden Inaktivierung unter der Einwirkung der Bakteriensuspension eine positive Wassermannsche Reaktion gewannen, erwiesen sich, wenn sie im aktiven Zustand mit der Bakteriensuspension behandelt und erst nachträglich inaktiviert wurden, hinsichtlich der erzielten positiven Wassermannschen Reaktion als thermostabil. Auch diese Beobachtungen sprechen mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit für die schon mehrfach erwähnte Anschauung, daß bei der Bakterienwirkung auf das Serum und der dadurch bewirkten positiven Reaktion außer dem globulinverändernden Einfluß auch noch eine Interferenz chemischer Bakterienprodukte eine Rolle spielt.

VI. Ueber die Zerstörung der positiven Reaktion umgewandelter Sera durch Salzsäure und Natronlauge.

Gleich wie es nun, wie ich in einem der vorangehenden Abschnitte hatte zeigen können, nicht nur durch Erwärmen, sondern auch durch Salzsäure- und Natronlaugeeinwirkung gelingt, das Serum gegenüber den eine Umwandlung seiner Reaktion bewirkenden Einflüssen resistent zu machen, so gelingt es auch, die experimentell erzeugte positive Wassermannsche Reaktion nicht nur durch Thermoinaktivierung, sondern auch durch Salzsäure- und Natronlaugeeinwirkung wieder zu zerstören, wie das folgende Versuchsbeispiel demonstriert.

Je 0,5 ccm aktives normales Menschenserum werden 24 Stunden im Eischrank mit je 0,5 ccm einer Aufschwemmung von *Bacillus prodigiosus* digeriert. Nach Abzentrifugieren der Bakterien erfolgt zu den Abgüssen Zusatz von

- 1) 0,25 ccm $\frac{1}{5}$ Normalsalzsäure
- 2) 0,25 „ $\frac{1}{10}$ „
- 3) 0,25 „ $\frac{1}{20}$ „
- 4) 0,25 „ $\frac{1}{50}$ „
- 5) 0,25 „ $\frac{1}{5}$ Normalnatronlauge
- 6) 0,25 „ $\frac{1}{10}$ „
- 7) 0,25 „ $\frac{1}{20}$ „
- 8) 0,25 „ $\frac{1}{50}$ „
- 9) 0,25 „ physiologischer Kochsalzlösung.

Nach 1-stündiger Digestion im Brutschrank werden die einzelnen Proben mit den entsprechenden Mengen Natronlauge und Salzsäure neutralisiert und durch Zusatz physiologischer Kochsalzlösung auf 10-fache Serumverdünnung gebracht.

Sodann erfolgt Anstellung der Wassermannschen Reaktion in der üblichen Weise.

Das Resultat zeigt die Tabelle XXXIII.

Tabelle XXXIII.

Menge des Extraktes	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit Prodigiosus-Aufschwemmung und								
	nach hierauf folgender Behandlung mit								9) NaCl
	Normalsalzsäure in der Verdünnung				Normalnatronlauge in der Verdünnung				
	1) $\frac{1}{5}$	2) $\frac{1}{10}$	3) $\frac{1}{20}$	4) $\frac{1}{50}$	5) $\frac{1}{5}$	6) $\frac{1}{10}$	7) $\frac{1}{20}$	8) $\frac{1}{50}$	
ccm									
$\frac{1}{6}$ 0,25	k	0	0	0	k	0	0	0	0
0,15	k	0	0	0	k	0	0	0	0
0,1	k	Spch	Spch	Spch	k	0	0	0	0
0	k	k	k	k	k	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	k	k	k	k	m	Spch	Spch	Spch	k

Wie die Tabelle zeigt, ist die durch die Bacillensuspension erzeugte positive Wassermannsche Reaktion des normalen Menschenserums durch $\frac{1}{5}$ Normalsalzsäure und Normalnatronlauge wieder zerstört worden.

Während in dem mitgeteilten Versuchsbeispiel Säure und Alkali eine gleich starke Zerstörung der positiven Reaktion bewirkt haben, erwies sich in anderen Versuchen die Salzsäure von stärkerer Wirksamkeit. Das Versuchsergebnis war aber insofern nicht bei allen Versuchen völlig eindeutig, als öfters die mit Natronlauge behandelten Serumproben entweder eine im Verhältnis zur Kontrolle verstärkte Hemmung der Hämolyse zeigten oder sogar eigenhemmend wurden, ein Verhalten, das geeignet war, eine stärkere Zerstörung durch Säure lediglich vorzutäuschen. Doch möchte ich mir versagen, auf diese Verhältnisse an dieser Stelle näher einzugehen, da diese Fragen mit den hier zu behandelnden Serumveränderungen in keinem direkten Zusammenhang stehen.

Jedenfalls ergibt sich aus den Versuchen, daß die unter dem Einfluß der Bacillensuspension erzeugte positive Wassermannsche Reaktion durch die Einwirkung von Salzsäure und Natronlauge wieder zerstört werden kann, durch die gleichen Faktoren also, die bei einer der Bacillenemulsion vorangehenden Einwirkung auf das Serum eine Resistenz gegenüber der Bacillensuspension herbeizuführen vermögen.

VII. Ueber den spontanen Rückgang der positiven Reaktion umgewandelter Sera.

Entspricht nun die Tatsache, daß die umgewandelten Sera durch Erhitzen und Einwirken von Salzsäure und Natronlauge ihre positive Wassermannsche Reaktion wieder verlieren können, dem Umstande, daß durch diese Eingriffe eine Stabilisierung der Serumeiweißkörper erfolgen kann, so stehen damit weitere Beobachtungen von mir im Einklang, nach denen auch beim einfachen Lagern der umgewandelten Serumproben ihre Fähigkeit, eine positive Wassermannsche Reaktion zu geben, unter Umständen, wenn auch nicht in gesetz-

mäßiger Weise, wieder erlöschen kann. Wir wissen ja, daß beim einfachen Lagern der Sera sich schon darin eine Stabilisierung der Globuline dokumentiert, daß derartige Sera schon die einfache Globulinfällung, wie wir sie bei der Klausnerschen Reaktion nachweisen, nicht mehr geben, und auch die Beobachtungen von Sachs und Teruuchi über die Inaktivierung des Komplements im salzarmen Medium haben gezeigt, daß einfaches Lagern der Meerschweinchensera die Inaktivierbarkeit des Komplements aufzuheben imstande ist.

Ich betrachte es also als gute Uebereinstimmung mit meinen bisherigen Versuchsergebnissen, daß auch das einfache Lagern der umgewandelten Sera genügt, um bei einer Reihe von Sera, wenn auch nicht bei allen, die im salzarmen Medium entstehende positive Wassermannsche Reaktion abzuschwächen oder sogar vollkommen verschwinden zu lassen, wie das die folgenden Versuchsbeispiele zeigen.

Je 0,5 ccm aktiven normalen Menschenserums werden mit je 4,1 ccm Aqua destillata gemischt.

Eine Probe der Sera (a) bleibt 48 Stunden im Eisschrank stehen, wird isotonisch gemacht und sofort auf Wassermannsche Reaktion untersucht.

Eine zweite Probe (b) bleibt 24 Stunden im Eisschrank stehen, wird dann isotonisch gemacht und bleibt bis zur Anstellung der Wassermannschen Reaktion nochmals 24 Stunden im Eisschrank stehen.

Die Resultate unter Verwendung verschiedener Sera zeigen die nächsten Tabellen.

Tabelle XXXIV.

Menge des Extraktes ccm	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschen- serum nach Vorbehandlung mit Aqua destillata; Serum untersucht			
	Serum I		Serum II	
	a) sofort	b) 24 Stund.	a) sofort	b) 24 Stund.
	nach Salzzusatz	nach Salzzusatz	nach Salzzusatz	nach Salzzusatz
$\frac{1}{8}$ 0,25	0	k	0	k
0,15	0	k	0	k
0,1	0	k	0	k
0	0	k	0	k
doppelte Serum- kontrolle	0	k	0	k

Tabelle XXXV.

Menge des Extraktes	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit Aqua destillata; Serum untersucht											
	Serum I		Serum II		Serum III		Serum IV		Serum V		Serum VI	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
	sofort	24 Std.	sofort	24 Std.	sofort	24 Std.	sofort	24 Std.	sofort	24 Std.	sofort	24 Std.
ccm	nach Salzzusatz		nach Salzzusatz		nach Salzzusatz		nach Salzzusatz		nach Salzzusatz		nach Salzzusatz	
$\frac{1}{8}$ 0,25	0	0	0	Sp	0	w	Spch	0	0	0	0	0
0,15	0	0	0	Sp	0	m	Spch	w	0	Spch	0	0
0,1	0	0	0	k	0	st	Spch	k	0	fk	0	Spch
0	0	k	0	k	0	k	st	k	0	k	0	k
doppelte Serum- kontrolle	0	fk	0	k	0	k	w	k	0	k	0	k

Tabelle XXXVI.

Menge des Extraktes	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit Aqua destillata; Serum untersucht											
	Serum I		Serum II		Serum III		Serum IV		Serum V		Serum VI	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
	sofort	24 Std.	sofort	24 Std.	sofort	24 Std.	sofort	24 Std.	sofort	24 Std.	sofort	24 Std.
ccm	nach Salzzusatz		nach Salzzusatz		nach Salzzusatz		nach Salzzusatz		nach Salzzusatz		nach Salzzusatz	
$\frac{1}{8}$ 0,25	0	Spch	Spch	Spch	0	0	0	0	0	0	0	0
0,15	0	Spch	Spch	Sp	0	0	0	0	0	Sp	0	Sp
0,1	0	Spch	Spch	Sp	0	0	0	Sp	0	st	0	Sp
0	w	m	w	fk	0	fk	m	st	0	fk	0	m
doppelte Serum- kontrolle	Spch	Spch	0	st	0	st	Spch	Sp	0	Spch	0	st

Tabelle XXXVII.

Menge des Extraktes	Wassermannsche Reaktion von normalem Menschenserum nach Vorbehandlung mit Aqua destillata; Serum untersucht									
	Serum I		Serum II		Serum III		Serum IV		Serum V	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
	sofort	24 Std.	sofort	24 Std.	sofort	24 Std.	sofort	24 Std.	sofort	24 Std.
ccm	nach Salzzusatz		nach Salzzusatz		nach Salzzusatz		nach Salzzusatz		nach Salzzusatz	
$\frac{1}{8}$ 0,25	Spch	m	Spch	st	0	w	Sp	fk	w	k
0,15	m	fk	st	fk	Sp	w	w	k	m	k
0,1	fk	k	st	fk	m	m	k	k	fk	k
0	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k
doppelte Serum- kontrolle	k	k	k	k	k	k	k	k	k	k

Aus den Tabellen ergibt sich, daß die durch salzarmes Medium veränderten und dann besalzenen Sera in bezug auf ihre positive Wassermannsche Reaktion allmählich mehr oder weniger zu dem Normalzustand zurückkehren. Es ist ebenso verständlich, daß, wie die Kontrollen zeigen, diese Rückwandlung erst dann eintreten kann, wenn die Serumproben vorher besalzen worden sind. Solange das salzarme Medium besteht, sind eben die Möglichkeiten zu Dispersitätsänderungen in dem hier in Betracht kommenden Sinne aufgehoben, und es entspricht das der von Friedemann gegebenen Deutung der schon seit den Untersuchungen Brands bekannten Tatsache, daß die isolierte Globulinfraktion des Serums sich nur im salzarmen Medium einigermaßen konstant aufbewahren läßt, dagegen bei Zusatz von Kochsalz in gelöstem Zustand die bekannten Umänderungen erleidet, auf die hier nur hingewiesen werden soll.

C. Zusammenfassung der Versuchsergebnisse und ihre Bedeutung für Theorie und Praxis der Serodiagnostik der Syphilis.

Fassen wir die wesentlichsten Ergebnisse der mitgeteilten Versuche zusammen, so ergibt sich aus ihnen, daß es gelingt, normale Menschensera durch globulinverändernde Einflüsse derart umzuwandeln, daß sie eine positive Wassermannsche Reaktion geben. Als einfachstes Mittel, um einen derartigen globulinverändernden Einfluß auf das Blutserum auszuüben, erwies sich die Ausschaltung der Salzwirkung durch Verdünnen der Sera mit destilliertem Wasser. Dabei ließ sich die globulinverändernde Wirkung des salzarmen Mediums hinsichtlich der Erzeugung einer positiven Wassermannschen Reaktion durch Veränderung der Temperatur, der Serumkonzentration sowie der Reaktion des Mediums (H-Ionenkonzentration) in maßgebender Weise beeinflussen. Es gelang ferner, normale Sera durch Behandlung mit einer Bakterienaufschwemmung sowie einer Inulinsuspension wassermanns positiv zu machen. Inulinlösungen blieben dagegen ohne Einfluß auf eine Aenderung der Wassermannschen Reaktion, so daß sich aus den Versuchen mit der Inulinsuspension

und der Inulinlösung in einwandfreier Weise die Bedeutung des physikalischen Zustandes des die Umwandlung des Serums bedingenden Agens für den Umschlag der Wassermannschen Reaktion erwies.

Für die Möglichkeit, ein normales Serum durch globulinverändernde Einflüsse wassermannspositiv zu machen, erwies sich nun nicht nur die Art des globulinverändernden Eingriffes, sondern auch die Beschaffenheit des Serums von wesentlicher Bedeutung. Wie nämlich einerseits die Umwandelbarkeit der Sera in weiten Grenzen von ihrer individuellen Eigenart abhängig ist, so ließ sich andererseits die Serumbeschaffenheit experimentell derart verändern, daß das normale Serum seine Fähigkeit, eine Umwandlung im Sinne des Entstehens einer positiven Wassermannschen Reaktion zu erfahren, verlor. Es genügte, das normale Serum thermischen Eingriffen oder der Einwirkung von Salzsäure oder Natronlauge in bestimmten Konzentrationen zu unterziehen, um seine Modellierbarkeit, d. h. seine Fähigkeit, unter dem Einfluß globulinverändernder Faktoren eine positive Wassermannsche Reaktion zu gewinnen, aufzuheben.

Die durch globulinverändernde Einflüsse experimentell erzeugte positive Wassermannsche Reaktion erwies sich aber nun nicht wie die echte positive, d. h. unter dem Einfluß der syphilitischen Infektion entstandene Wassermannsche Reaktion als thermostabil, sondern sie wurde durch Erwärmen des Serums auf 45 bis 55° wieder zerstört. Lediglich bei den mit Bakteriensuspensionen behandelten Sera ließ sich in manchen Fällen eine Thermostabilität der erzeugten positiven Reaktion nachweisen. Ferner war in einer Reihe von Sera nach ihrer Umwandlung im salzarmen Medium ein spontaner Rückgang bzw. eine Abschwächung der Reaktion zu beobachten, wenn die Sera nach der Besalzung d. h. nach Herstellung der physiologischen Kochsalzkonzentration stehen blieben. Dagegen teilte die experimentell durch globulinverändernde Einflüsse erzeugte positive Wassermannsche Reaktion mit der echten Wassermannschen Reaktion die Zerstörbarkeit durch Salzsäure und Natronlauge in bestimmten Konzentrationen.

Wenn wir nun die mitgeteilten Versuchsergebnisse zusammenfassen und aus ihnen Schlußfolgerungen auf die Biologie des Blutserums, insbesondere auf die Theorie der Wassermannschen Syphilisreaktion zu ziehen versuchen, so wird man gut tun, mit kritischer Vorsicht die gefundenen Tatsachen zu verwerten. Seit den Untersuchungen von Sachs und Altmann wissen wir, daß das Verhalten des aktiven menschlichen Serums bei der Wassermannschen Reaktion des dem inaktiven Serum zukommenden charakteristischen Gepräges entbehrt. Ich glaube, daß es müßig ist, will man in das Wesen der für Syphilis charakteristischen Serumveränderung näher eindringen, darüber zu diskutieren, ob zwischen dem Verhalten des aktiven und des inaktiven Serums in bezug auf die Wassermannsche Reaktion nur ein quantitativer oder ein qualitativer Unterschied besteht. In theoretischer Hinsicht mag man von quantitativen Differenzen sprechen, es kommt dabei schließlich auf die Fassung des Problems an, ob die Unterschiede als geringfügig oder wesentlich imponieren. Wir wissen ja schon aus den Untersuchungen Friedemanns, daß die Fähigkeit der normalen isolierten Globuline, eine positive Wassermannsche Reaktion zu ergeben, in bezug auf Thermolabilität oder Thermostabilität je nach der Tierart schwankt. So sind z. B. die Globuline des Kaninchenserums in dieser Hinsicht thermostabil, diejenigen des Menschenserums thermolabil. Wenn wir aber sehen, daß, abgesehen von den bekannten wenigen Ausnahmen, das menschliche Blutserum gerade nur unter dem Einfluß der syphilitischen Infektion die Fähigkeit erwirbt, auch im thermoinaktivierten Zustand eine positive Wassermannsche Reaktion zu ergeben, so werden wir, wie ich meine, auf die Thermostabilität der Serumeigenschaft größten Wert legen müssen, wenn wir in die Art der für Syphilis charakteristischen Serumveränderung etwas näher einzudringen versuchen. Damit steht nicht im Widerspruch, daß die ersten Anfänge der syphilitischen Serumveränderung thermolabil sein können, worauf Boas¹⁾

1) H. Boas, Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 9, p. 400.

sowie Thomsen und Boas¹⁾ hinweisen, aber diese Anfänge der syphilitischen Serumveränderung, die sich in Thermolabilität äußern, kommen auch bei anderen Infektionen oder unter anderen Einflüssen vor. Sie sind eben in diesen Anfängen noch nicht für Syphilis charakteristisch. Dem entspricht es ja auch, daß die Wassermannsche Reaktion mit aktivem Serum ebenfalls unspezifisch ist. Aber bereits in diesem Sinne beanspruchen die hier mitgeteilten Versuchsergebnisse ein nicht geringes Interesse. Ich möchte nicht glauben, wie dies Hirschfeld und Klinger tun, daß die Umwandlung des aktiven Serums durch globulinfällende Eingriffe in ein wassermannpositives Serum eine Nachahmung der unter dem Einfluß der Syphilis erfolgenden Serumveränderung darstellt. Die von mir erhobenen Befunde sprechen vielmehr in ihrer Gesamtheit dafür, daß die Veränderungen, die wir im Reagenzglas durch globulinverändernde Mittel erzielen, und die uns erst durch die Ausführung der Wassermannschen Reaktion sichtbar werden, denjenigen Vorgang bedeuten, der in unspezifischer und nicht für Syphilis charakteristischer Weise zu einer positiven Wassermannschen Reaktion im aktiven Serum führt. Dafür spricht der Umstand, daß die Umwandelbarkeit eben nur mit aktivem, nicht mit inaktivem Serum gelingt, und weiterhin die Tatsache, daß die derart erhaltenen, zur positiven Wassermannschen Reaktion führenden Serumfunktionen thermolabil sind. Die Thermolabilität entspricht vollkommen dem Verhalten der unspezifischen Wassermannschen Reaktion im aktiven Serum. Erst jüngst haben die Untersuchungen von Stilling²⁾ in Uebereinstimmung mit Boas gezeigt, daß schon sehr geringfügige thermische Eingriffe genügen, um die uncharakteristische Reaktion im nichtsyphilitischen aktiven Serum aufzuheben.

Wenn dem aber so ist, so dürfte sich aus meinen Versuchen die interessante Schlußfolgerung er-

1) O. Thomsen und H. Boas, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 10, 1911, p. 337.

2) E. Stilling, Berl. klin. Wochenschr., 1917, No. 11.

geben, daß physikalische Beeinflussungen des Blutserums sich darin dokumentieren können, daß die Sera eine allerdings an labile Serumqualitäten gebundene, positive Wassermannsche Reaktion ergeben. Man wird daher in der Annahme nicht fehlgehen, wenn man die unspezifische positive Wassermannsche Reaktion im aktiven Serum als Folge von Globulinveränderungen ansieht, die in vivo entstehen, und von diesem Gesichtspunkt aus kann es nicht wundernehmen, daß die unspezifische Wassermannsche Reaktion im aktiven Serum gerade unter dem Einfluß von Infektionskrankheiten (Lepra, Tuberkulose, Scharlach usw.), Geschwülsten, Gravidität, Eklampsie, Nephritis, Urämie usw. ein gar nicht seltenes Vorkommnis ist. Alle diese Erkrankungen können zu physikalischen Veränderungen im Blutserum führen, und die dadurch bedingte Globulinalteration kann sich je nach dem Grade der Veränderung einerseits in thermolabiler Eigenhemmung des Serums äußern, oder sie braucht diesen Grad der Globulinveränderung nicht zu erreichen und dokumentiert sich dann in dem Auftreten einer positiven Wassermannschen Reaktion. Für die Praxis der Wassermannschen Reaktion ergibt sich daher aus meinen Untersuchungen auf neuartiger experimenteller Grundlage die Forderung, die Sera für die Ausführung der Wassermannschen Reaktion stets zu inaktivieren. Denn abgesehen davon, daß meine Untersuchungen darauf hinweisen, daß es sich eben bei den im Reagenzglas erzielten Serumalterationen um die gleichen Veränderungen handelt, die beim lebenden Menschen zu einer unspezifischen Wassermannschen Reaktion führen können, muß man die für die Methodik der Wassermannschen Reaktion wichtige Tatsache berücksichtigen, daß ja die gleichen Einflüsse, die ich, ebenso wie Hirschfeld und Klinger, in meinen Versuchen auf das Blutserum willkürlich wirken ließ, auch ohne unser Zutun nach der Blutentnahme auf das Serum einwirken können. Ich denke dabei bereits an den Vorgang der Blutgerinnung, durch

den ja auch schon physikalische Einflüsse auf das Blutserum gegeben sind, die erst extravaskulär die Vortäuschung einer positiven Wassermannschen Reaktion verursachen können, die sich aber dann bei der Inaktivierung des Serums ohne weiteres von der durch den syphilitischen Prozeß bewirkten Serumveränderung unterscheiden läßt. Berücksichtigt man ferner noch das Moment des Schüttelns des Blutes beim Transport, die Möglichkeit bakterieller Verunreinigungen, besonders bei septikämischen Erkrankungen, so dürften hinreichend Möglichkeiten gegeben sein, die zu einer unspezifischen, durch die Inaktivierung entfernbaren Wassermannschen Reaktion führen.

Nun habe ich aber, wie in den früheren Kapiteln erwähnt, bei der Behandlung der Sera durch eine Aufschwemmung von *Bacillus prodigiosus* nicht ganz selten Sera gefunden, bei denen die Veränderung im Sinne der positiven Wassermannschen Reaktion eine stabilere war und auch nach dem Inaktivieren persistierte. In solchen Fällen gelang es zugleich, auch das vorher durch thermische Einflüsse inaktivierte Serum durch Einwirken der Bacillenaufschwemmung in ein wassermanns-positives Serum umzuwandeln. Es ist zweifellos, daß in diesen Fällen dasjenige Kriterium, das mich im allgemeinen davon abhält, die Serumalteration durch Globulinveränderung im Sinne der künstlichen Erzeugung einer positiven Wassermannschen Reaktion zu deuten, nicht vorhanden ist; denn in diesen Versuchen wurde ja eben einerseits auch inaktives Serum verändert, andererseits war die Serumveränderung durch Thermostabilität ausgezeichnet. Ich muß natürlich bei dem nicht sehr umfangreichen Material, das mir in dieser Hinsicht zur Verfügung steht, mit weitgehenden Schlußfolgerungen vorsichtig sein. Aber man darf doch die Tatsache berücksichtigen, daß die Benutzung von Bakterien als globulinveränderndem Agens durchaus einen weitgehenden Eingriff bildet, als die Veränderung des Serums durch salzfreies Medium oder Inulinsuspensionen. Handelt es sich bei dem salzarmen Medium um das ideale, lediglich physikalisch wirkende Mittel, so kommt bei Bakterien außer dem physikalischen Einfluß die Summe von denjenigen Substanzen hinzu, die das Bakterienproto-

plasma zusammensetzen. Man könnte sich also vorstellen, daß bei dem Einfluß von *Prodigiosus* bacillen auf das Serum — und in diesem Sinne spricht auch die Tatsache, daß sich hierbei nicht alle Stämme für die Umwandlung des Serums in gleicher Weise geeignet erwiesen — außer der Globulinveränderung noch ein Einfluß von Lipoidstoffen beteiligt ist, der zu thermostabiler Wassermannscher Reaktion führt. Dann würden diese Versuche allerdings im Sinne einer wirklichen künstlichen Erzeugung wassermannpositiver Sera zu deuten sein, und man müßte daraus schließen, daß die für Syphilis charakteristische Serumveränderung durch das Zusammenwirken zweier Momente zustande kommt, nämlich einmal durch eine Veränderung des physikalischen Globulinzustandes, dann aber auch durch gleichzeitige geeignete Veränderung der chemischen Zusammensetzung der Lipoide im Blutserum. Erst vor kurzem hat H. Sachs¹⁾ die Möglichkeit erörtert, daß die antikomplementäre Wirkung, die der Ausdruck einer positiven Wassermannschen Reaktion ist, durch ein optimales Zusammenwirken der Lipoide des Blutserums und des Organextraktes zustande kommen könnte unter gleichzeitiger Annahme von Globulinveränderungen im Serum. Man müßte also nach der von Sachs erörterten Vorstellung in der Lage sein, durch Zusatz von Lipoiden und Lipoidgemischen negative Sera in positive umzuwandeln, und in einem gewissen Grade ist das Sachs nach seinen neueren Angaben durch Zusatz von Seifen gelungen. Es wird aber auch der Annahme von Sachs durchaus entsprechen, wenn der Zusatz von Seifen oder anderen Lipoiden allein nicht hinreicht, um ein negatives Serum in ein positives zu verwandeln, sondern wenn dazu eben noch die Globulinveränderung hinzukommen müßte. Man könnte sich mithin in Kombination der Ausführungen von Sachs und der von mir gewonnenen experimentellen Versuchsergebnisse den Vorgang in folgender Weise vorstellen: Globulinveränderungen führen an und für sich zu einer positiven Wassermannschen Reaktion

1) H. Sachs, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 26, 1917, p. 451.

des Serums; die besondere Serumqualität, die hierbei resultiert, ist aber thermolabil. Durch Veränderung der Lipoidzusammensetzung des Blutserums [Lipoideiweißverbindungen, vgl. Friedemann und Rosenblat¹⁾] wird eine Thermostabilität der Globuline sowohl in bezug auf ihre Alterierbarkeit als auch in bezug auf ihre Fähigkeit, ihren veränderten physikalischen Zustand beizubehalten, erzielt, und so entsteht die für Syphilis charakteristische Serumveränderung. Wie dem aber auch sei, jedenfalls dürfte sich aus meinen Untersuchungen für das Verständnis des Wesens der für Syphilis charakteristischen Serumveränderung ein Fortschritt darin ergeben, daß meine Versuche dartun, daß die Globulinveränderung zwar durchaus in entsprechender Richtung wirkt, wie die unter der Einwirkung der Syphilis sich ergebenden Prozesse, daß aber das bisher vorliegende experimentelle Tatsachenmaterial noch nicht ausreichen dürfte, um in der künstlichen Umwandlung der Sera durch globulinverändernde Einflüsse eine Lösung des Problems erblicken zu können, negative Sera willkürlich in wassermannpositive umzuwandeln, d. h. die bei der syphilitischen Infektion auf das Blutserum in vivo wirkenden Einflüsse experimentell in vitro nachzuahmen.

D. Schlußsätze.

1) Normale Menschensera werden bei Digestion im salzarmen Medium in der Wärme nur ausnahmsweise, in der Kälte dagegen in weit höherem Prozentsatz wassermannpositiv oder eigenhemmend.

2) Bei Variation der Serumkonzentration wird dagegen fast jedes normale Serum in der Kälte bei bestimmten Verdünnungsgraden wassermannpositiv oder eigenhemmend. Ist dieser optimale Verdünnungsgrad noch nicht erreicht oder bereits überschritten, so bleibt der Umschlag der Reaktion aus. Dabei läßt sich allerdings kein einheitlicher Verdünnungsgrad angeben, der die geeignetste Bedingung für das Positiv-

1) U. Friedemann und H. Rosenblat, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 14, 1912, p. 42.

werden der Sera darstellt. Es hängt vielmehr von der jeweiligen Eigenart des Serums bzw. von dem jeweiligen Verdünnungsgrad ab, ob das Serum negativ bleibt oder auf den Einfluß der Wasserverdünnung mit dem Entstehen einer positiven Wassermannschen Reaktion oder mit dem Auftreten von Eigenhemmung reagiert. -

3) Bei denjenigen Sera, bei denen die Wasserverdünnung allein ohne Einfluß auf den Umschlag der Reaktion bleibt, genügt die Aenderung der Reaktion des Mediums durch Herstellung einer Säurekonzentration von $\frac{1}{200}$ bis $\frac{1}{500}$ Normalsalzsäure, um auch bei Digestion derartiger Sera in der Wärme positive Wassermannsche Reaktion oder Eigenhemmung herbeizuführen. Bei denjenigen Sera, bei denen die Wasserverdünnung allein schon zum Auftreten einer, wenn auch schwachen, positiven Wassermannschen Reaktion führt, verstärkt der Säurezusatz den Umschlag der Reaktion oder vermag das Serum sogar eigenhemmend zu machen. Dagegen hebt ein Ueberschuß von Salzsäure die bei der Wasserverdünnung allein entstehende positive Wassermannsche Reaktion wieder völlig auf.

4) Da nun der Verdünnungsgrad des Serums sowie die Temperatur einerseits, die Reaktion des Mediums (H-Ionenkonzentration) andererseits für den jeweiligen Grad der im salzarmen Medium eintretenden Globulinveränderung von maßgebender Bedeutung sind, so ergibt sich, daß die Aenderung der Serumqualität im Sinne des Auftretens einer positiven Wassermannschen Reaktion bzw. von Eigenhemmung an einen bestimmten optimalen Grad der Globulinveränderung geknüpft ist. Ist dieser Grad noch nicht erreicht, so bleibt der Umschlag der negativen Reaktion aus. Ist dieser optimale Grad der Globulinveränderung bereits überschritten, so erfährt das Serum ebenfalls keine Umwandlung seiner Reaktion.

5) Ebenso wie durch Behandlung der Sera im salzarmen Medium gelingt es, Sera auch durch Digestion mit einer Bakterienaufschwemmung wassermannspositiv oder eigenhemmend zu machen. Auch hierbei erweist sich Temperaturherabsetzung von begünstigender Wirkung.

6) Dagegen ist bei der Behandlung des Serums mit Bakterien ein Einfluß der Konzentration des Serums auf die Um-

wandelbarkeit der Reaktion nicht eindeutig nachzuweisen. Die für diese Divergenz gegenüber den Verhältnissen beim salzarmen Medium in Betracht kommenden Umstände werden diskutiert.

7) Es gelingt ferner, normale Menschensera durch Behandlung mit einer Inulinsuspension wassermannpositiv zu machen. Dagegen bleibt die Behandlung des Serums mit einer Inulinlösung ohne Einfluß auf den Umschlag der Reaktion. Es dokumentiert sich also hierbei die Aenderung der Reaktionsweise des Serums in augenscheinlich einwandfreier Weise als eine reine Funktion des physikalischen Zustandes, in dem sich das zur Behandlung des Serums dienende Substrat befindet, da nur die Inulinsuspension kraft ihrer physikalischen Eigenart zu der die Umwandlung der Reaktion bedingenden Zustandsänderung der Serumglobuline zu führen vermag.

8) Wie nun die Möglichkeit, ein normales Serum wassermannpositiv zu machen, nicht nur von der Art des globulinverändernden Eingriffes, sondern auch von der individuellen Eigenart des Serums abhängt, so gelingt es auch, die Serumbeschaffenheit experimentell derart zu verändern, daß das Serum seine Modellierfähigkeit verliert, d. h. den globulinverändernden Einflüssen gegenüber unempfindlich, stabil wird. Es genügt, das Serum thermischen Eingriffen (Erwärmen auf 45—55°) oder der Einwirkung von Salzsäure und Natronlauge in bestimmten Konzentrationen zu unterziehen, um ihm seine Umwandelbarkeit im Sinne der Erzeugung einer positiven Reaktion unter dem Einfluß globulinverändernder Faktoren zu nehmen. Lediglich die Behandlung des Serums mit Bakterien nahm dabei eine gewisse Ausnahmestellung ein.

9) Die unter dem Einfluß globulinverändernder Faktoren erzielte positive Wassermannsche Reaktion erweist sich nicht als thermostabil, sondern wird durch Erwärmen des umgewandelten Serums auf 45—55° wieder zerstört. Nur die durch Bakterieneinwirkung auf das Serum erzeugte positive Wassermannsche Reaktion besitzt bei manchen Seren eine Thermoresistenz, wofür zur Erklärung die Interferenz von lipoiden Bakterienprodukten bzw. Bakterienleibessubstanzen herangezogen wird.

10) Es gelingt ferner, die positive Wassermannsche Reaktion umgewandelter Sera auch durch Salzsäure und Natronlauge wieder zu zerstören.

11) In manchen Fällen genügt auch das einfache Lagern der umgewandelten Sera, um die im salzarmen Medium entstandene positive Wassermannsche Reaktion nach dem Salzzusatz wieder abzuschwächen oder vollkommen verschwinden zu lassen.

12) Die Bedeutung der Versuchsergebnisse für die Erkenntnis des Wesens der zur positiven Wassermannschen Reaktion führenden Serumveränderung wird besprochen.

(G. C.)

Nachdruck verboten.

[Aus den Laboratorien der bakteriologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin und der Medizinischen Klinik der Universität Breslau.]

**Beiträge zur Immunität bei Trypanosomeninfektionen.
Ueber den Mechanismus der chemotherapeutischen Heilung ¹⁾.**

Von **F. Rosenthal** (im Felde).

(Eingegangen bei der Redaktion am 3. November 1917.)

Für den Heileffekt eines Arzneimittels sind bekanntlich nicht allein die chemischen Affinitäten zwischen chemotherapeutischer Substanz und den sie verankernden Parasitenzellen, sondern auch die komplexen Beziehungen zwischen Chemikale und Wirtsorganismus von entscheidender Bedeutung. Der Ausgang des chemotherapeutischen Versuches wird durch die Verteilung der wirksamen Substanz zwischen die Chemozeptoren tragenden Zellen des Makroorganismus und die giftbindenden Apparate der in ihm enthaltenen körperfremden Mikroorganismen bestimmt. Je mehr die Parasitotropie über die Organotropie des wirkenden Mittels überwiegt, desto stärker tritt der chemotherapeutische Heileffekt unter gleichzeitiger geringer Schädigung des kranken Wirtstieres in die Erscheinung; je mehr sie zurücktritt, desto mehr wachsen die Möglichkeiten einer Giftschädigung des Wirtskörpers zu Ungunsten einer mikrobiziden Wirkung auf die Krankheitserreger.

Es ergibt sich leicht aus dem vorliegenden Tatsachenmaterial auf dem Gebiete der experimentellen Chemotherapie, daß diese biologische Formel der Distribution von Ehrlich bei aller ihrer Bedeutung als ordnendes Prinzip doch nicht die Mannigfaltigkeit der bei der chemotherapeutischen Heilung sich abspielenden biologischen Vorgänge erschöpfend umfaßt.

1) Der experimentelle Teil der vorliegenden Arbeit ist bereits Sommer 1913 abgeschlossen gewesen.

Morgenroth und Halberstädter weisen darauf hin, daß diese Betrachtungsweise nur die Giftbindung der Zellen in Rechnung zieht, nicht aber ihre Giftempfindlichkeit berücksichtigt, daß also das distributive Prinzip nur nach chemischen, nicht energetischen Gesichtspunkten die Erscheinungen beim chemotherapeutischen Versuch ordnet. Auch fehlt hier eine Berücksichtigung des zeitlichen Ablaufes der Resorptions- und Eliminationsprozesse in ihrer Beziehung zur absoluten Menge, bzw. zur Konzentration des chemotherapeutischen Agens in den Körpersäften, da in der Regel ein um so größerer keimvernichtender Effekt erzielt wird, je länger sich eine optimale Konzentration des Mittels in der Zirkulation erhält.

Mit der durch die spezifische Wirkung der chemotherapeutischen Substanz eingeleiteten Abtötung der Parasiten erschöpfen sich jedoch nicht die durch das Chemikale im Wirtsorganismus ausgelösten Prozesse. Wie die Vaccination mit abgetötetem und abgeschwächtem Keimmateriale die Bildung spezifischer Schutzkörper zur Auslösung bringt, so schließt sich auch an den Untergang der durch das Chemotherapeutikon getroffenen Parasiten ein Stadium lebhafter Antikörperbildung an, deren bedeutsame Rolle für das Schicksal des erkrankten Organismus von Ehrlich selbst in grundlegenden Versuchen bei der experimentellen Trypanosomeninfektion erkannt worden ist. Mit intuitiver Erfassung des Heilungsproblems hat bereits Ehrlich angenommen, daß der durch das chemotherapeutische Agens eingeleitete Heilungsprozeß unter der Mitwirkung spezifischer trypanozider Antikörper beendet werden kann. Ihre Anwesenheit ist, wie erfolglose Nachimpfungsversuche bei geheilten Trypanosomen-Mäusen beweisen, bereits 2—3 Tage nach Beginn der chemotherapeutischen Behandlung gesichert, ohne daß sich aus dieser Feststellung freilich Schlüsse auf den genauen zeitlichen Eintritt der Antikörperbildung und ihren Anteil an dem Verschwinden der Trypanosomen noch während der Wirkung des Heilmittels ergeben. Auch Schilling neigt der Ansicht zu, daß die trypanoziden Antikörper in sehr kurzer Zeit nach der Einspritzung des Medikamentes auftreten. So gibt er an, daß z. B. bei durch Arsenophenylglyzin abgeheilten Nagana-Ratten schon nach 24 Stunden eine Immunität gegen Superinfektionen vorhanden

ist, und daß ferner bei einem Nagana-infizierten Kaninchen schon 3 Stunden nach einer Arsenophenylglyzininjektion Schutzstoffe im Blute nachzuweisen waren (Schilling und Jaffé). Soweit aus den kurzen Angaben und der Art der Methodik zu ersehen ist, läßt sich bei diesen Versuchsergebnissen eine Interferenz der lang anhaltenden prophylaktischen Wirkung des Arsenophenylglyzins wohl nicht mit Sicherheit ausschalten. Es kommt hinzu, daß alle Versuche, bei welchen die Nachinfektion mit Trypanosomen subkutan oder intraperitoneal erfolgt, den genauen Zeitpunkt des Auftretens der Immunkörper im Kreislauf überhaupt nicht erkennen lassen.

Die folgenden Versuche behandeln die Frage, ob die Bildung der spezifischen trypanoziden Substanzen noch innerhalb der Periode der chemotherapeutischen Abtötung rapide erfolgt, oder erst nach dem Ausklang der pharmakologischen Wirkung einsetzt, ob, mit anderen Worten, die Antikörperbildung durch eine Phase der Latenz von dem eigentlichen chemotherapeutischen Vorgang getrennt ist oder ihn noch in seinem Spätstadium als wesentlicher Bestandteil des Heilungsprozesses begleitet.

Wir gingen in unseren Experimenten zunächst so vor, daß wir trypanosomenkranke Mäuse auf der Höhe der Infektion mit einem geeigneten chemotherapeutischen Mittel heilten und ihnen in bestimmten Zeitabständen nach Verabreichung des Heilmittels intravenös frische Trypanosomen in dichter Aufschwemmung nachinjizierten. Als Gradmesser der eingetretenen Immunität diente, ähnlich wie bei der Beurteilung des trypanoziden Effektes einer pharmakologischen Substanz, die Schnelligkeit des Verschwindens der auf diese Weise in die Zirkulation geschleuderten Trypanosomen, bzw. die Verzögerung des zeitlichen Verlaufes der so von neuem gesetzten Infektion.

Eine Fehlerquelle, die sich bei solchen Versuchen ergibt, ist die z. B. beim Arsacetin, Arsenophenylglyzin langdauernde Nachwirkung des chemotherapeutischen Agens. Nicht jede chemotherapeutische Substanz ist daher bei dieser Versuchstechnik verwendbar. Sie muß die Eigenschaft besitzen, in möglichst kurzer Zeit die Infektion zu beenden, und muß nach dem sterilisierenden Schlage durch Elimination

und Alteration so schnell wieder unwirksam werden, daß eine prophylaktische Wirkung auf die nachfolgende Infektion nur während eines möglichst begrenzten Zeitraumes zustande kommt. Aus diesen Gesichtspunkten erscheint der Brechweinstein als das Mittel der Wahl, der in der Regel nach unseren ausgedehnten Erfahrungen (Morgenroth und Rosenthal) die Trypanosomen bei vollentwickelter Infektion in höchstens 3 Stunden zum Verschwinden bringt, und dessen Schutz gegen eine nachträgliche starke intravenöse Infektion 10 Minuten nach Injektion nur unvollkommen, 1 Stunde nach Injektion kaum noch, und 2—3 Stunden post injectionem überhaupt nicht mehr in die Erscheinung tritt. Die therapeutische Dosis betrug 0,2 ccm Kaliumantimonyltartrat 1:1000 subkutan. Als Kontrollen zwecks Ausschaltung einer prophylaktischen Antimonwirkung auf die nachträgliche erneute Infektion dienten gesunde Mäuse, bei denen die Antimonbehandlung und die nachfolgende intravenöse Trypanosomeninjektion in entsprechenden Intervallen, wie bei den eigentlichen Versuchstieren, erfolgte.

Was die Technik der intravenösen Injektion bei weißen Mäusen betrifft, so schloß sich das von uns geübte Verfahren eng an das von Ritz an, das sich nicht wesentlich von den Trommsdorffschen Vorschriften entfernt. Als Injektionsmenge diente 1 ccm einer +++-Trypanosomenaufschwemmung in 0,85-proz. Kochsalzlösung. Stets ging der Nachinfektion eine Kontrolle des Blutes der Versuchstiere auf Trypanosomenfreiheit voraus.

Als zweckentsprechend für die Beurteilung der sicheren intravenösen Injektion erwies sich uns die Beimengung einiger Tropfen Taubenblut zur Trypanosomenaufschwemmung, eine Methode, die wir ganz allgemein als Kriterium der wirklich intravenösen Injektion bei kleinen Versuchstieren empfehlen möchten. Nur die Versuche fanden in den folgenden Tabellen Verwertung, wo unmittelbar nach der intravenösen Injektion in die Schwanzvene die großen, kernhaltigen Taubenblutkörperchen im Ohrblut der Versuchsmäuse nachgewiesen werden konnten.

Die mikroskopischen Befunde werden folgendermaßen bezeichnet:

(+) bedeutet ein Trypanosoma oder nur wenige Trypanosomen bei Durchsicht zahlreicher Gesichtsfelder, + = in den meisten oder allen Gesichtsfeldern ein Trypanosoma, dazwischen auch mehrere, ++ = mehrere (5—10) Trypanosomen im Gesichtsfelde, +++ = zahlreiche Trypanosomen,

++++ = sehr zahlreiche Trypanosomen, wie sie kurz vor dem Tode der Tiere zu finden sind, † = gestorben an der Trypanosomenseptikämie, 0 = keine Trypanosomen, — = nicht untersucht.

Tabelle I.

Bei einem Trypanosomengehalt von +++ im Blut werden die Versuchsmäuse mit 0,2 ccm Tartarus stibiatus 1:1000 subkutan abgeheilt, worauf in den angegebenen Intervallen 1 ccm einer +++-Aufschwemmung frischer Trypanosomen intravenös nachinjiziert wird.

Intervall zwischen chemotherapeutischer Behandlung und intra- venöser Nachinfektion	Trypanosomengehalt des Blutes vor der intra- venösen Nachinfektion	Verlauf der intra- venösen Nach- infek- tion nach:										Bemerkungen
			5'	1 ^h	2 ^h	3 ^h	6 ^h	8 ^h	24 ^h	48 ^h	72 ^h	
		bei Maus:										
3 ^h	0	1	+++	++	++	++	++	—	++	+++	†	Prophylaktische Kontrolle stirbt gleichzeitig.
3 ^h	0	29	++	+	+	+	—	++	++	+++	+++ †	Prophylaktische Kontrolle stirbt 12 ^h früher.
4 ^h	0	2	++	—	++	+	—	+	++	+++	†	Prophylaktische Kontrolle stirbt gleichzeitig
4 ^h	0	18	++	++	++	++	+	(+)	0	0	0	Rezidiv 6 Tage nach der Anti- monbehandlung.
8 ^h	0	4	+	+	—	—	+	+	+	++	+++ †	Prophylaktische Kontrolle stirbt 24 ^h vorher.
24 ^h	0	6	0	—	—	0	0	—	0	0	(+)	Rezidiv 4 Tage nach der Anti- monbehandlung.
24 ^h	0	7	0	0	—	0	0	—	0	0	0	Rezidiv 6 Tage nach der Anti- monbehandlung.
24 ^h	0	8	0	0	0	0	—	—	+	0	0	Rezidiv 5 Tage nach der Anti- monbehandlung.
48 ^h	0	12	0	0	0	—	0	—	0	0	0	Rezidiv 6 Tage nach der Anti- monbehandlung.
48 ^h	0	13	0	0	0	—	—	0	0	0	0	Rezidiv 6 Tage nach der Anti- monbehandlung.
48 ^h	0	14	(+)	0	0	—	0	—	0	0	(+)	Rezidiv 5 Tage nach der Anti- monbehandlung.

Es geht somit aus diesen Versuchen hervor, daß schon 24 Stunden nach der Zufuhr des Kaliumantimonyltartrats eine intensive Antikörperbildung stattgefunden hat. Die nach dieser Zeit in die Blutbahn der abgeheilten Mäuse geschleuderten Trypanosomen sind bereits 5 Minuten nach der intravenösen Injektion in der Zirkulation nicht mehr sichtbar. (Vgl. Maus 6, 7, 8.) Der gleiche Befund ist in ganz entsprechender Weise auch bei den Tieren 12, 13, 14 zu erheben, welche 48 Stunden nach Beginn der chemotherapeutischen Abheilung mit den Trypanosomen des Ausgangsstammes nachinfiziert wurden. Auch hier wurde trotz der massigen intravenösen Infektion die Zirkulation binnen wenigen Minuten wieder trypanosomenfrei. Bei einigen dieser Mäuse konnte man unmittelbar nach der erneuten Infektion in sehr charakteristischer Weise die schnelle Auflösung von zahlreichen Parasiten unter dem Mikroskop verfolgen. Bemerkenswert ist bei Maus 8, daß unmittelbar nach der Injektion der Trypanosomen die Parasiten im Blut nicht anzutreffen sind, dagegen 24 Stunden später sporadisch vorübergehend im Kreislauf wieder auftreten. Es weist diese Erscheinung offenbar auf verwickelte Beziehungen zwischen der Antikörperkonzentration im Organismus und den ihr erliegenden Mikroorganismen hin. Wir können uns vorstellen, daß infolge der neugesetzten Infektion ein so starker Antikörperverbrauch stattfindet, daß schließlich eine vorübergehende Erschöpfung des Immunkörpergehaltes des Wirtstieres und eine zeitlich begrenzte, relative Insuffizienz des immunisatorischen Apparates eintritt. In einem solchen Stadium ist den der Immunkörperwirkung entgangenen Trypanosomen die Möglichkeit zu erneutem Erscheinen in der Blutbahn gegeben. Sie verschwinden von neuem, sobald dem Organismus im Verlaufe der nächsten Stunden wieder frisch gebildete Antikörper in genügender Konzentration zur Verfügung stehen. In ähnlichem Sinne deuten wir auch den Verlauf der Nachinfektion bei den Versuchsmäusen 1 und 2, welche gleichzeitig mit den Kontrolltieren der Trypanosomenseptikämie erliegen. Wir nehmen an, daß hier die Antikörperbildung hinter der Fortentwicklung der neuen Infektion immer zurückbleibt, und daß die Antikörperkonzentration im Blute niemals den zur

Abtötung der stark vorgeschrittenen Infektion notwendigen Schwellenwert erreicht. Daß hierbei die Phänomene der Serumfestigkeit der Trypanosomen nicht interferieren, haben wir mit Sicherheit in eigens darauf gerichteten Untersuchungen ausschließen können.

Der Termin von 24 Stunden nach Beginn der Antimonbehandlung stellt den ungefähren zeitlichen Schwellenwert dar, bei dem die trypanozide Immunität bereits voll ausgeprägt in die Erscheinung tritt. Je mehr wir das Intervall zwischen chemotherapeutischer Behandlung und intravenöser Nachinfektion verkleinern, desto mehr nähern wir uns dem Zeitpunkt des Beginnes der spezifischen Antikörperproduktion, und desto mehr muß begreiflicherweise die Antikörperkonzentration der Körpersäfte abnehmen. An die Stelle des rapiden Verschwindens der nachinjizierten Trypanosomen aus der Zirkulation als grobes Kriterium der Immunkörperbildung tritt daher die Verzögerung des Infektionsverlaufes als empfindlicheres biologisches Reagens für das Auftreten von Schutzkörpern im Kreislauf. Es ist nun klar, daß durch eine zu starke intravenöse Nachinfektion das Vorhandensein spärlicher Antikörper verschleiert werden kann, daß also der Nachweis geringer Antikörpermengen im Frühstadium der Antikörperbildung eine entsprechende Abstufung der intravenösen Nachinfektion eigentlich verlangt. Da nun einer starken Verminderung der intravenösen Nachinfektion durch die Methode von vornherein enge Grenzen gesteckt sind, so bleiben für die genauere Präzisierung des Beginns der Antikörperbildung unterhalb des Zeitwertes von 24 Stunden nach erfolgter chemotherapeutischer Behandlung nur die positiven Befunde von entscheidendem Wert. Sie zeigen, daß die Entstehung der trypanoziden Serumkörper noch vor 24 Stunden außerordentlich früh bereits einzusetzen beginnt. So gibt sich bei Maus 4, die 8 Stunden nach Beginn der chemotherapeutischen Behandlung, also etwa 5 Stunden nach dem Verschwinden der Trypanosomen aus der Zirkulation von neuem intravenös nachinjiziert wurde, als Zeichen der Anwesenheit spärlicher Antikörper eine deutliche Hemmung des Infektionsverlaufes schon in den ersten Stunden post superinfectionem zu erkennen. Noch 8 Stunden

nach erfolgter Nachinfektion, 16 Stunden nach Beginn der chemotherapeutischen Behandlung hat im Gegensatz zu der normaliter, sich rasch fortentwickelnden Infektion der Trypanosomengehalt des Blutes keine Steigerung erfahren. Auch bei den Mäusen 2, 18 und 1, 29, die 4 Stunden, bzw. 3 Stunden nach Beginn der Abheilung der intravenösen Nachinfektion unterworfen wurden, machen sich Andeutungen einer Hemmung der Infektionsentwicklung als Symptom frühzeitigst beginnender Antikörperbildung bemerkbar. Sie ist z. B. deutlich bei Maus 18 zu erkennen, bei der die Nachinfektion im Verlaufe der ersten 3 Stunden keine Tendenz zur Steigerung aufweist und bereits 10 Stunden nach Beginn der chemotherapeutischen Behandlung eine immer stärkere Rückbildung erfährt. Auch bei Maus 1 und besonders Maus 29 ist die Anwesenheit von trypanoziden Antikörpern aus der anfänglichen Hemmung der Nachinfektion zu erschließen, indem bei beiden Tieren schon im Verlauf der ersten Stunde post superinfectionem, 4 Stunden nach der Antimon-Behandlung der Trypanosomengehalt des Blutes zunächst abnimmt.

Es geht somit aus den geschilderten Ergebnissen hervor, daß die immunisatorische Bildung der trypanoziden Serums substanzen außerordentlich früh ausgelöst wird, daß die trypanoziden Immunkörper bereits 4 Stunden nach Beginn des Heilungsprozesses, etwa 1 Stunde nach dem Verschwinden der letzten Trypanosomen, in der Zirkulation nachgewiesen werden können und daß sie infolge sich rasch steigender Konzentration schon 24 Stunden nach Einleitung der chemotherapeutischen Behandlung eine voll ausgeprägte Immunität des Wirtstieres gegen eine neue starke Infektion bewirken. Nehmen wir nun hinzu, daß die Methode der intravenösen Nachimpfung als Testobjekt nur frische, ungeschädigte Trypanosomen benutzt, so dürften sich die hier gewonnenen Resultate auf den natürlichen Verlauf des Heilvorganges noch weit deutlicher projizieren, bei welchem die frühzeitigst, wenn auch zunächst spärlich auftretenden trypanoziden Serumkörper bereits schwer durch das chemotherapeutische Agens geschädigte Parasiten treffen.

Die so gewonnenen Resultate über die außerordentlich schnelle Bildung trypanozider Antikörper im Verlaufe des chemotherapeutischen Heilungsvorganges laufen zusammen mit gleichsinnigen Feststellungen, die sich aus anderen, im folgenden beschriebenen indirekten Methoden ergeben. Ein Einblick in das pharmakologische Schicksal des dem Organismus zugeführten Kaliumantimonyltartrats leitete uns hierbei auf die Wege, die gleichfalls zu einer beweiskräftigen Beantwortung der Frage nach dem zeitlichen Beginn der spezifischen Antikörperbildung sowie über die aktive Teilnahme der trypanoziden Schutzkörper an dem Zustandekommen des unmittelbaren chemotherapeutischen Heileffektes führen.

Wie nämlich aus den Untersuchungen von Massoin hervorgeht, wird der in die Blutbahn übertretende Tartarus stibiatus in kürzester Zeit wieder aus der Zirkulation entfernt und in den parenchymatösen Organen des Bauches, vor allem in der Leber und in den Nieren fixiert. Schon 30 Sekunden nach der intravenösen Injektion der einfach tödlichen Dosis (15 cg pro Kilogramm Kaninchen) von Kaliumantimonyltartrat ist der größte Teil des Antimons aus dem Kreislauf verschwunden und in den Bauchorganen abgelagert. Es schließt sich also an ein kurzdauerndes Zirkulationsstadium des Antimons, innerhalb dessen in steilstem Anstieg das Konzentrationsmaximum des Chemikale für Augenblicke in den Körpersäften erreicht wird, zugleich mit steilstem Abfall des Antimongehaltes des Blutes als zweite Phase der Intoxikation ein Depotstadium an, in welchem durch Bindung an die Eiweißkörper der Parenchymzellen das Antimon in den Bauchorganen gespeichert wird. Diese Bindung des Antimons an die Organeiweißsubstanzen ist nun nach Levaditi und Knafl-Lenz durch ihre leichte Dissoziabilität charakterisiert, die mit Wahrscheinlichkeit auf einer nur physikalischen Adsorption des Brechweinsteins an das Eiweißmolekül beruht. So wird dank der Lockerheit dieser Verbindung aus antimonvergifteten Lebern die trypanozide Substanz in geringen Mengen konstant und leicht an die Waschflüssigkeiten abgegeben. Uebertragen auf den lebenden Organismus, müssen wir demnach annehmen, daß aus den antimonspeichernden Parenchymzellen fortgesetzt durch die umspülenden Körpersäfte die trypanozide Substanz

in kleinsten Mengen von neuem ausgeschwemmt wird, und daß sich aus den Organdepots ein langsamer, kontinuierlicher Antimonstrom in die Zirkulation ergießt, der bei zwar geringem Konzentrationsniveau doch eine zeitlich anhaltende Antimonwirkung im Blut ermöglicht. Hieraus ergibt sich für den Verlauf des chemotherapeutischen Versuches mit Kaliumantimonyltartrat, daß wir entsprechend den beiden Phasen des zirkulierenden und deponierten Antimons ein Stadium des starken, aber rasch vorübergehenden chemotherapeutischen Schlages und ein Stadium der Depotbehandlung zu unterscheiden haben.

Nun läßt sich unter dieser Betrachtungsweise theoretisch leicht folgern, daß das gleiche chemotherapeutische Resultat durch die verschiedenartigste Gestaltung des Experimentes erreicht werden kann. Sofern wir die gleichen pharmakologischen Bedingungen für den Eintritt des Kaliumantimonyltartrats in den Organismus durch Einhaltung einer konstanten Applikation wahren, muß auch die im Heilversuch markant hervortretende trypanozide Wirkung des Antimons bei modifizierter Infektion, also z. B. im prophylaktischen Versuch erscheinen. Hier liegen die Aussichten für den chemotherapeutischen Effekt auf den ersten Blick scheinbar um so günstiger, als die parasitizide Wirkung des Antimons in der Zirkulations- und Depotphase nur eine schwache, nicht, wie im Heilversuche, eine vollentwickelte Infektion trifft. Für den Fall, daß die prophylaktische Wirkung hinter der Heilwirkung unter sonst gleichen Applikationsverhältnissen wesentlich zurücksteht, läßt sich daher ohne weiteres folgern, daß im Heilversuch die trypanozide Wirkung des Chemikale durch unmittelbar einsetzende Vorgänge erhöht wird, die im prophylaktischen Versuch ausbleiben, bzw. sich nur in geringem Maße abspielen, und die angesichts des schnellen Zerfalls zahlreichster Trypanosomen im Heilversuch nur auf eine rapid entstehende, immunisatorisch ausgelöste Antikörperbildung bezogen werden können. Wie überraschend groß in der Tat die Divergenz der chemotherapeutischen Wirkung des Brechweinsteins im Schutzversuch und Heilversuch in die Erscheinung tritt, zeigen die folgenden Tabellen IIa und II b.

Tabelle II a.
Nagana Prowazek. Prophylaktischer Versuch mit *Tartarus stibiatus* 1 : 1000 subkutan.

Tage nach der Infektion	0,2 ccm <i>Tartarus stibiatus</i> 1 : 1000					0,1 ccm <i>Tartarus stibiatus</i> 1 : 1000					Kontrollen	
	555	556	557	558	559	560	561	562	567	568		
1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
2	(+)	0	0	(+)	(+)	(+)	+	+	+	+		
3	+	0	(+)	+	+	+	+	+	+	+		
4	++	+	++	++	++	++	+	+	+	+		
5	+	++	++	+	+	+	+	+	+	+		
6	+	++	++	+	+	+	+	+	+	+		

Tabelle II b.
Nagana. Heilversuch mit *Tartarus stibiatus* 1 : 1000 subkutan.

Tage nach der Infektion	0,2 ccm <i>Tartarus stibiatus</i> 1 : 1000					0,1 ccm <i>Tartarus stibiatus</i> 1 : 1000					Kontrollen		
	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	a	b	c
2	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	++	++	++
4	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	++	++	++
5	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	++	++	++
6	0	0	0	0	0	0	(+)	0	0	0	+	+	+
7	am	am	am	am	am	am	++	am	am	am	+	+	+
	10. Tage Rezidiv	10. Tage Rezidiv	17. Tage Rezidiv	16. Tage Rezidiv	14. Tage Rezidiv	8. Tage Rezidiv		8. Tage Rezidiv	8. Tage Rezidiv	8. Tage Rezidiv			

Beim prophylaktischen Versuch erfolgte durchschnittlich 5 Minuten nach der subkutanen Infektion die Injektion der Brechweinsteinlösung unter die Bauchhaut, beim Heilversuch erst bei einem ++- oder +++-Trypanosomengehalt im Stadium der hochentwickelten Septikämie.

Ein Vergleich der Tabellen IIa und IIb zeigt, daß die prophylaktische Wirkung des Kaliumantimonyltartrats ganz beträchtlich hinter seiner Heilwirkung zurücksteht (vgl. hierzu Morgenroth und Rosenthal, Teichmann). So führt 0,1 ccm der Verdünnung 1:1000 im prophylaktischen Versuch noch kaum zu einer Entwicklungshemmung, dagegen ist die gleiche Dosis im Heilversuche imstande, meist ein Verschwinden der Trypanosomen herbeizuführen. Am ausgesprochensten erscheinen die Differenzen bei 0,2 ccm 1:1000, einer Dosis, die sich im Heilversuch als zuverlässig wirksam erweist, die dagegen im prophylaktischen Versuch nicht ausreicht und höchstens nur zu einer Verzögerung der Entwicklung der Trypanosomen bei einzelnen Tieren führt.

Es ergibt sich somit hier das paradoxe Resultat, daß das Kaliumantimonyltartrat bei gleicher Dosierung gegenüber einer vollentwickelten Infektion eine markante Heilwirkung entfaltet, gegenüber einer gerade angehenden Infektion aber in beträchtlichem Maße versagt, und daß die gleiche Menge des Chemikale bei ausgeprägter Parasitämie die Heilung des erkrankten Tieres innerhalb von ca. 3 Stunden zum Abschluß bringt, während bei schwacher Infektion der gleiche Effekt auch in mehr als 24 Stunden nicht erzielt wird. Da die Schutz- und Heilversuche der Tabellen IIa und IIb sich nur in bezug auf das Stadium der Infektion unterscheiden, bei dem die chemotherapeutische Behandlung einsetzt, im übrigen aber unter völlig gleichen pharmakologischen Versuchsbedingungen ablaufen, so muß der auffallende Unterschied des chemotherapeutischen Effektes in einem Quantitätsfaktor der Infektion gesucht werden. Er macht es verständlich, warum die im prophylaktischen Versuch ungenügende chemotherapeutische Dosis im kurativen Versuch eine eklatante Heilwirkung besitzt, indem bei vollentwickelter Infektion unter dem Einfluß der Behandlung naturgemäß eine weit größere

Zahl von Parasiten dem Untergang verfällt als im Schutzversuch mit seinem spärlichen Trypanosomengehalt. Dementsprechend bewirken die auf der Höhe der Septikämie nach der Antimoninjektion sich im Kreislauf stark anhäufenden Zerfallsprodukte der Trypanosomen einen stärkeren immunsatorischen Iktus als die spärlichen antigenen Massen, welche bei der chemotherapeutischen Behandlung der gerade angehenden Infektion durch Zerfall der wenigen im Organismus kreisenden Parasiten entstehen. Es findet somit die Divergenz zwischen dem ungenügenden chemotherapeutischen Effekt des Kaliumantimonyltartrats im prophylaktischen Versuch und der überaus schnellen desinfizierenden Wirkung des Brechweinsteins bei florider Trypanosomeninfektion darin ihre Erklärung, daß beim Mechanismus der chemotherapeutischen Heilung trypanozide Immunkörper unmittelbar interferieren, welche in kürzester Zeit unter dem antigenen Reiz der durch das Antimon zahlreich abgetöteten Parasitenleiber gebildet werden. So kommt die in etwa 2—3 Stunden sich vollziehende Heilung der weit vorgeschrittenen Trypanosomeninfektion durch *Tartarus stibiatus* durch Summation einer an sich ungenügenden chemotherapeutischen Wirkung mit sekundär durch sie rapid ausgelösten trypanoziden Antikörpern zustande, während im Schutzversuch der an sich mangelhafte chemotherapeutische Effekt der angewandten Antimondosis infolge des fast völligen Ausbleibens immunisatorischer Vorgänge fast rein in die Erscheinung tritt. Ähnliche Beobachtungen über die unterlegene Wirkung von chemotherapeutischen Agentien im Schutzversuch gegenüber der Heilwirkung im kurativen Versuch beschreibt Ehrlich bei der Frambösie und Uhlenhuth bei der Hühnerspirillose. Daß abgetötete Trypanosomenleiber in der Tat antigene Fähigkeiten besitzen, haben die Untersuchungen von Braun und Teichmann, Schilling über die aktive Immunisierung bei Trypanosomeninfektionen bewiesen.

Den im vorangehenden geführten indirekten Nachweis über die unmittelbare Mitwirkung rapid entstehender spezifischer trypanozider Antikörper bei dem Mechanismus der chemotherapeutischen Heilung haben wir durch die von

Morgenroth und Rosenthal eingehend beschriebene antagonistische Reaktion zwischen Kaliumantimonyltartrat und Kaliumhexatantalat weiter zu stützen versucht. Dieser Antagonismus kommt im chemotherapeutischen Trypanosomenexperiment darin zum Ausdruck, daß die energische trypanozide Wirkung des subkutan zugeführten Kaliumantimonyltartrats aufgehoben erscheint, wenn der Antimonzufuhr in bestimmten Intervallen eine subkutane Behandlung mit Kaliumhexatantalat vorausgeschickt wird. Die Trypanosomen bleiben dann gegen die sonst so markante Wirkung des Tartarus stibiatus geschützt und vermehren sich weiter. Dieser Effekt kommt dadurch zustande, daß das Kaliumhexatantalat als ein echtes, nur langsam ausgeschiedenes Antidot gegen das Antimon in der Zirkulation wirkt, und zwar so, daß ein für Trypanosomen unwirksames Reaktionsprodukt zwischen Kaliumantimonyltartrat und Kaliumhexatantalat in der Blutbahn entsteht (Morgenroth und Rosenthal, Rosenthal und Severin).

Von dieser Feststellung ausgehend, haben wir in den folgenden Experimenten versucht, die chemotherapeutische Wirkung des Kaliumantimonyltartrats im schwer infizierten Tiere durch intravenöse Tantalzufuhr in den verschiedenen Stadien der Einwirkung zu schwächen. Wir haben, wie oben ausgeführt wurde, im Verfolg des pharmakologischen Schicksals des in den Organismus eingeführten Brechweinsteins ein Stadium des zirkulierenden und deponierten Antimons und in entsprechender Projektion auf das Trypanosomenexperiment ein Stadium des chemotherapeutischen Schlages von einem Stadium der Depotbehandlung unterschieden. Wir gehen wohl nicht fehl, wenn wir die geringe prophylaktische Wirkung des Antimons 10 Minuten bis 1 Stunde nach der Injektion angesichts des rapiden Verschwindens des Antimons aus dem Blute im wesentlichen als eine Funktion des Depotstadiums des Antimons betrachten. Wenn die chemotherapeutische Heilung der Trypanosomeninfektion ausschließlich eine Funktion des Chemikale darstellt, so mußte erwartet werden, daß eine während der Dauer der chemotherapeutischen Antimonwirkung einsetzende Tantalzufuhr stets eine Störung des Heilungsablaufes zur Folge haben würde, um so mehr, als ja,

wie wir aus dem Ergebnis des Schutzversuches gesehen haben, der chemotherapeutische Effekt der angewandten Antimondosis für sich allein ein unzureichender ist. Mit anderen Worten: die an sich schon ausgesprochene chemotherapeutische Insuffizienz des Antimons im Zirkulations- und Depotstadium, wie sie bei mildester Infektion im prophylaktischen Versuch zum Ausdruck kommt, müßte im Heilversuch je nach der zeitlichen Zufuhr des antimonparalysierenden Tantals noch mehr gesteigert erscheinen.

Solange das erste Stadium des zirkulierenden Antimons noch nicht auf die Trypanosomen zur Wirkung gelangt ist, beansprucht die Kupierung des Heilungsprozesses durch Tantal nur als biologisch-chemische Reaktion ein Interesse, ohne Material für die hier in Diskussion stehende Frage zu liefern. Daß in der Tat auch bei intravenöser, möglichst frühzeitiger Injektion die Heilwirkung des in die Zirkulation eindringenden Antimons beseitigt werden kann, lehrt die folgende Tabelle III.

Die intravenös injizierte Tantaldosis betrug 1 ccm einer Kaliumhexatantalat-Verdünnung 1:800 in physiologischer Kochsalzlösung, eine Dosis, die nach früheren Untersuchungen die trypanozide Wirkung von 0,2 ccm einer Brechweinsteinlösung 1:1000 subkutan gerade noch mit Sicherheit innerhalb der Zirkulation aufzuheben vermag. Die intravenöse Injektion von Kaliumhexatantalat hat einen nicht unerheblichen Ausfall an Versuchstieren zur Folge, die öfters kurz nach der Injektion unter stürmischen, von klonischen Zuckungen begleiteten Erscheinungen zugrunde gehen.

Tabelle III.

Nagana subkutan. Kaliumantimonyltartrat 1:1000 subkutan (T.), Kaliumhexatantalat 1:800 intravenös (Kt.).

Tage nach der Infektion	In unmittelbarem Anschluß an die Kaliumantimonyltartratinjektion intravenöse Injektion von Kaliumhexatantalat			Kontrollen für die trypanozide Wirkung des Kaliumantimonyltartrats			Unbehandelte Kontrolltiere	
	—	—	—	—	—	—	—	—
1	—	—	—	—	—	—	—	—
3	++ 0,2 T. 1,0 Kt.	++ 0,2 T. 1,0 Kt.	++ 0,2 T. 1,0 Kt.	++ 0,2 T.	+++ 0,2 T.	++ 0,2 T.	++	++
4	+++	++	+	0	0	0	+++	+++
5	+++ †	+++	++	0	0	0	†	+++ †
6		†	+++ †	0	0	0		

Hier wird die Antimonverbindung zu einer Zeit bereits abgefangen, wo sie kaum oder überhaupt noch nicht auf die Trypanosomen zur Wirkung gelangt ist. Für die uns hier beschäftigende Frage sind jedoch vor allem die Zeitpunkte von Wichtigkeit, in welchen das Tantal bei noch nicht beendetem Zirkulationsstadium und im Depotstadium des Antimons eingreift. Ob angesichts des schnellen Verschwindens des Antimons aus dem Blute immer das Zirkulationsstadium durch Tantal noch getroffen werden wird, bleibt fraglich. Wohl wird aber bei kurzen Intervallen zwischen Antimon- und Tantalzufuhr die chemotherapeutische Wirkung des aus den Organdepots ausgeschwemmten Antimons ausgeschaltet bleiben, also eine Schwächung der chemotherapeutischen Wirkung des Kaliumantimonyltartrats stattfinden. Wenn trotz dieser Abschwächung durch Tantal der Brechweinstein im kurativen Versuch eine eklatante Heilwirkung auszuüben vermag, so wird damit die geschilderte Divergenz zwischen der ungenügenden Schutzwirkung des Brechweinsteins und seiner markanten Heilwirkung noch mehr gesteigert und die Interferenz rasch entstehender spezifischer Antikörper aufs neue gewichtig nahegelegt.

Tabelle IV.

Nagana subkutan. Kaliumantimonyltartrat 1:1000 subkutan (T.),
Kaliumhexatantalat 1:800 intravenös (Kt.).

Tage nach der Infektion	Intervall zwischen subkutaner Kaliumantimonyltartratinjektion u. intravenöser Kaliumhexatantalatinjektion						Kontrollen für die trypanozide Wirkung des Kaliumantimonyltartrats		Kontrollen, intravenös mit Kaliumhexatantalat behandelt	
	etwa 2'	6'	10'	17'	21'	31'				
1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	+++ 0,2 T. 1,0 Kt.	+++ 0,2 T. 1,0 Kt.	+++ 0,2 T. 1,0 Kt.	+++ 0,2 T. 1,0 Kt.	+++ 0,2 T. 1,0 Kt.	+++ 0,2 T. 1,0 Kt.	+++ 0,2 T.	+++ 0,2 T.	+++ 1,0 Kt.	+++ 1,0 Kt.
4	+++	++	0	0	0	0	0	0	++++	++++
5	++++	+++	0	0	0	0	0	0	+	
6		+	0	0	0	0	0	0		

Wie die Tabelle IV nun zeigt, vermag das Kaliumhexatantalat nur noch bei einem Zeitintervall von 6 Minuten zwischen Antimonbehandlung und Tantalzufuhr den Heilungsprozeß aufzuhalten, während bereits 10 und 17 Minuten nach

der therapeutischen Applikation des Tartarus stibiatus das Kaliumhexatantalat ohne jeden Einfluß auf den Heilungsverlauf bleibt, obwohl zu dieser Zeit noch zahlreiche intakte Individuen der Trypanosomen in der Zirkulation vorhanden waren. Während dieser Zeit ist aber, wie aus Kurvenversuchen von Morgenroth und mir hervorgeht, eine beträchtliche Zahl der Trypanosomen der zerstörenden Kraft des Kaliumantimonyltartrats zum Opfer gefallen, von der vor allem die antimonempfindlichsten Trypanosomen betroffen werden.

Es vermag somit das Kaliumhexatantalat den unter der trypanoziden Wirkung des Kaliumantimonyltartrats sich vollziehenden Heilungsprozeß nur so lange zu kupieren, als nicht eine größere Menge von Trypanosomen zugrunde gegangen ist. Hat aber ein solcher Zerstörungsprozeß in erheblicherem Umfange begonnen, so vermag auch die frühzeitige Abschwächung des chemotherapeutischen Agens das Verschwinden der Trypanosomen aus der Zirkulation nicht mehr aufzuhalten.

Hieraus ergibt sich der Schluß, daß mit dem Zerfall von Trypanosomen eine rasche Antikörperbildung bereits in den ersten Stunden nach Zufuhr des chemotherapeutischen Agens einsetzt und daß der durch das Chemotherapeutikon eingeleitete Heilungsprozeß unter der unmittelbaren Wirkung schnell entstehender trypanozider Immunkörper beendet wird.

Zusammenfassung.

Die trypanoziden Immunkörper treten bereits in den ersten Stunden nach Beginn der chemotherapeutischen Behandlung auf und nehmen am Heilvorgang unmittelbaren aktiven Anteil. Ihr frühzeitiges Auftreten wird bewiesen:

I. Direkt: durch die Methode frühzeitiger intravenöser Nachinfektion bei frisch geheilten Trypanosomen-Mäusen. Vor-

aussetzung für die Brauchbarkeit der Methode ist die Verwendung eines chemotherapeutischen Mittels, das, wie z. B. der Brechweinstein, durch eine rasch abklingende prophylaktische Wirkung ausgezeichnet ist.

II. Indirekt: a) durch die paradoxe Divergenz der chemotherapeutischen Wirkung des Kaliumantimonyltartrats im Schutz- und Heilversuche;

b) durch den ungestörten Heilverlauf der mit Kaliumantimonyltartrat behandelten Trypanosomeninfektion trotz frühzeitiger Abschwächung der Antimonwirkung durch Kaliumhexatantalat.

Literatur.

- Braun und Teichmann, Versuche zur Immunisierung gegen Trypanosomen, Jena (Gustav Fischer) 1912.
 Ehrlich, Zeitschr. f. ärztl. Fortbildung, 6. Jahrg., 1909, p. 721.
 Ehrlich und Gonder, Chemotherapie. Kolle-Wassermann, Bd. 3, 1913, p. 337.
 Levaditi und Knaffl-Lenz, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2, p. 545.
 Massoin, Malys Jahresberichte, 1903, p. 290.
 Morgenroth und Halberstädter, Sitzungsberichte der Kgl. Preuß. Akademie der Wissenschaften, Sitzung vom 21. Juli 1910.
 Morgenroth und Rosenthal, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 68, 1911, p. 418; ebenda, Bd. 68, p. 506. — Sitzung der Gesellschaft der Charité-Aerzte vom 3. Nov. 1910, Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 2.
 Ritz, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 9, 1911, Heft 1, p. 333.
 Rosenthal und Severin, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm., Bd. 68, 1912, p. 275.
 Schilling, Immunität bei Protozoeninfektionen. Kolle-Wassermann, Bd. 7, 1913, p. 565; Deutsche med. Wochenschr., 1912, No. 1, p. 13.
 Teichmann, Biochem. Zeitschr., 1917.
 Trommsdorff, Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt, Bd. 32, 1909, Heft 2, p. 568. (G. C.)

Nachdruck verboten.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des k. und k. Militär-sanitätskomitees in Wien (Vorstand: Oberstabsarzt Prof. Dr. R. Doerr).]

Soll die Wassermannsche Reaktion mit aktivem oder inaktiviertem Patientenserum ausgeführt werden?

Von L. Berczeller.

(Eingegangen bei der Redaktion am 2. Dezember 1917.)

Die technischen Modifikationen der Wassermannschen Reaktion (Hämolysehemmungsreaktion bei Lues) sind bekanntlich sehr zahlreich; berücksichtigt man auch die kleineren Abweichungen, die oft bedeutungsvoller sind, als man ohne genauere Experimente annehmen würde, so kann man sagen, daß fast jedes Laboratorium mit seiner eigenen Methodik arbeitet. Im allgemeinen ergeben die benützten Varianten der Reaktion Resultate, welche mit den klinischen Befunden und auch untereinander in befriedigender Uebereinstimmung stehen; bei einer Anzahl der untersuchten Fälle treten jedoch erhebliche Differenzen zutage, welche nicht nur die diagnostische Verwertung der Ergebnisse unmöglich oder bedenklich machen, sondern auch den Bemühungen einen Riegel vorschieben, gewisse hygienische Maßnahmen (Eruierung, Evidenthaltung und Behandlung der latenten Luetiker, Entlassung der Luetiker bei der Demobilisierung, Erteilung von Ehelizenzen etc.) ganz oder partiell auf die Wassermannsche Reaktion aufzubauen. Es ist daher ebenso verständlich wie gerechtfertigt, daß besonders in der letzten Zeit wiederholt der Versuch gemacht wurde, für die Hämolysehemmungsreaktion bei Lues eine einheitliche Methodik zu schaffen und einzuführen; ein Erfolg war diesen Aktionen bisher nicht beschieden, weil keiner der Autoren, die mit solchen Vorschlägen hervortraten, nachzuweisen vermochte, daß seine Art der Ausführung die beste sei, d. h. die sicherste Unterscheidung zwischen Lues und Non-Lues gestatte und neben maximaler

21 *

Spezifität auch genügende Empfindlichkeit besitze. Die Ursache liegt darin, daß man über das Wesen bzw. über das Zustandekommen der Hämolysehemmung nicht unterrichtet ist und daß man daher die Vorzüge einer bestimmten Technik nur auf statistischem Wege stützen kann, indem man die erhaltenen Befunde mit den Resultaten anderer Methoden einerseits, mit den klinischen Beobachtungen andererseits vergleicht. Daß dieser Weg zu keiner Einigung führen kann, ist a priori klar und durch die literarischen Erzeugnisse dieser vorwiegend polemischen Arbeitsrichtung auch empirisch erhärtet.

Es schien mir somit aussichtsvoller, zunächst den Mechanismus der Reaktion eingehender zu studieren und eine physikalisch-chemische Analyse desselben zu versuchen. Unter den verschiedenen Angriffspunkten, von denen aus die einschlägigen Fragen einer Lösung zugänglich sein konnten, wählte ich in den nachstehenden Experimenten die Tatsache, daß die Hämolysehemmungsreaktion bei Lues¹⁾ verschieden ausfallen kann, je nachdem man die zu untersuchenden Patientensera in aktivem oder in inaktiviertem Zustande verwendet. Welches von diesen beiden Prinzipien man in praxi benützen wollte, war bisher bei Wahrung völliger Objektivität Sache der Willkür; manche Forscher lehnen die „aktiven“ Methoden allerdings völlig ab, andererseits wird jedoch in vielen Instituten ausschließlich mit aktivem Patientenserum, und zwar zur Zufriedenheit der Kliniker, gearbeitet. Das statistische Material, das pro und contra publiziert wurde, läßt die Entscheidung offen. Daß sich aber Differenzen zwischen aktivem und inaktivem Serum de facto ergeben, wird allseits zugegeben.

Prüfen wir die Ursachen, auf welchen diese Differenzen beruhen, also die Veränderungen, welche das Serum durch das Inaktivieren in der üblichen Form erfährt, so müssen dieselben, soweit sie für die HHR. in Betracht kommen, in zwei Richtungen gesucht werden: 1) verliert das inaktivierte Serum seine komplettierende Kraft, und 2) verringert sich seine Fähigkeit, im Vereine mit Antigen die Aktion des Kom-

1) Der Kürze halber sei im folgenden die Abkürzung HHR. gebraucht.

plementes zu hemmen. Beide Vorgänge sind in ihrem Einfluß auf das sichtbare Ergebnis der HHR. einander entgegengesetzt; der erste begünstigt das Zustandekommen „positiver“ Resultate (Hemmungen), der zweite den Eintritt „negativer“ (Lysen); der durch das Inaktivieren des Patientenserums erreichte Endeffekt wird eben davon abhängen, ob sich die entgegengesetzt gerichteten Veränderungen kompensieren oder ob die eine von ihnen überwiegt. Im ersteren Falle würde kein Unterschied gegenüber dem aktiven Patientenserum wahrzunehmen sein, im letzteren ja.

Nun können wir bei einer ganzen Reihe von Fällen konstatieren, daß Sera, welche in aktivem Zustande „positiv“ reagieren, nach der Inaktivierung die Hämolyse nicht mehr hemmen, also im diagnostischen Sinne als „negativ“ bezeichnet werden müssen. Diese Erscheinung ist allgemein bekannt und vielfach bestätigt, vor allem auch von Boas, welcher das Phänomen besonders im Frühstadium der Lues sah. In solchen Fällen scheint also die Vernichtung der komplettierenden Kraft gegenüber der Verminderung der hemmenden Eigenschaften nicht in Betracht zu kommen, was bisweilen darauf beruhen kann, daß die hemmenden Fähigkeiten des Serums (wie im Frühstadium der Lues) an sich schwach entwickelt sind, so daß jede weitere Reduktion derselben sehr in die Wagschale fällt.

Gibt es auch Fälle, in welchen erhitzte (inaktivierte) Sera stärker „positiv“ reagieren als im frischen, aktiven Zustande? Nach meinen eigenen, noch später zu besprechenden Ergebnissen sehe ich mich genötigt, diese Frage zu bejahen. Zur Erklärung derartiger Vorkommnisse im Sinne der obigen Ausführungen müßten wir annehmen, daß das Ergebnis der HHR. durch die Elimination des Komplements im Patientenserum unter Umständen intensiver beeinflußt werden kann, als durch die Alteration der hemmenden Eigenschaften. Damit berühren wir die viel diskutierte Frage, ob man bei jenen Methoden der Wassermann-Reaktion, welche mit einem zugesetzten (Meerschweinchen-)Komplement arbeiten, das Eigenkomplement des Patientenserums vernachlässigen darf oder nicht.

Manche Autoren, die sich mit dem Thema befaßten, wollten in der Weise eine Entscheidung herbeiführen, daß sie den Komplementgehalt des Menschen- und des Meerschweinchen-serums zu bestimmen und so zu ermitteln trachteten, ob ersterer als eine zu vernachlässigende Größe angesehen werden kann. Diese Bestimmung erfolgte nach der in der Serologie allgemein üblichen Methodik durch Feststellung der Titergrenze. Man kann sich aber, wie ich zeigen werde, durch direkte Messungen der hämolytischen Komplementwirkung leicht überzeugen, daß die sogenannte Titergrenze keinen Schluß auf die komplettierende Wirksamkeit des betreffenden Serums erlaubt, wenn sich die Mengen- oder Konzentrationsverhältnisse der sonstigen im Reaktionsgemisch vorhandenen Substanzen ändern. Es ist daher auch nicht zulässig, von „Komplementeinheiten“ zu sprechen, weil man dadurch dynamische und volumetrische Begriffe in fixe Beziehungen bringt, obwohl die Beobachtung lehrt, daß diese Beziehungen variieren. Vor derartigen Konfundierungen sollte schon die Erfahrung schützen, daß eine solche „Einheit“ oft genug absolut stärker wirkt als konzentriertere Lösungen, obwohl letztere ja mehr „Einheiten der wirksamen Stoffe“ enthalten müßten.

Als Maß der hämolytischen Wirksamkeit der verschiedensten Stoffe (also auch komplettierender Sera) eignet sich besser der hämolytische Effekt, den wir entweder durch die in Lösung tretende Hämoglobinmenge oder durch das Volum der ungelöst bleibenden Erythrozyten ausdrücken können. Beide Methoden liefern nicht völlig korrespondierende Werte, da z. B. Quellungen oder Schrumpfungen der roten Blutkörperchen in Betracht kommen.

Ich habe vorläufig den hämolytischen Effekt durch die Menge des gelösten Hämoglobins ausgedrückt¹⁾, die unter den verschiedensten Versuchsbedingungen direkt zahlenmäßig

1) Kolorimetrische Ablesungen — speziell auch für die Analyse der Wassermannschen Reaktion — wurden schon von Boas und Thomsen (Vergleich mit einer Hämoglobinskala) und von Jeanselme und Vernes (Vergleich mit einer Säurefuchsin-Pikrinsäure-Skala) angewendet. Diese Autoren hielten aber noch an dem prinzipiellen Unterschied zwischen „positivem (hämolysehemmendem)“ und „negativem (lösendem)“ Serum fest, eine Auffassung, welche der meinigen gerade entgegengesetzt ist.

bestimmbar ist; so war ich der Notwendigkeit enthoben, aus anders zusammengesetzten Systemen indirekte Schlüsse zu ziehen, von deren Richtigkeit für die jeweils vorliegenden Reaktionsgemische ich mir keine sichere Ueberzeugung zu verschaffen vermochte.

Die Bestimmung der gelösten Hämoglobinmenge wurde mit dem **Autenriethschen** Kolorimeter ausgeführt. Da es sich nur um Vergleichswerte handelte, setzte ich als Standardlösung für den Glaskeil des Kolorimeters eine Lösung von 12,5 ccm nativen Hammelblutes in 2 Litern destillierten Wassers willkürlich fest; diese Vergleichsflüssigkeit ist bei Zimmertemperatur veränderlich, hält sich aber in eisgekühlten Gefäßen mehrere Wochen. Auch bei niedrigerer Temperatur färbt sich die Testflüssigkeit bald violett, bei Zimmerwärme noch rascher; doch ist diese Verfärbung, die auf Reduktionsvorgängen beruht, reversibel und durch Schütteln mit Luft leicht rückgängig zu machen, eine Prozedur, der man die Lösung im Glaskeil von Zeit zu Zeit unterwerfen muß. Dies kann aber nicht beliebig oft wiederholt werden; schließlich wird die Hämoglobininlösung gelbrot, was man leicht daran bemerkt, daß die Farben der untersuchten und der Testflüssigkeit nicht nur in der Intensität, sondern auch qualitativ differieren, man füllt dann in den Glaskeil eine neue Portion aus der Eisschale ein. Ich habe eine Portion im Keil in der Regel nur einen Tag benutzt.

Eine größere Konstanz der Testflüssigkeit ließe sich erzielen, wenn man das Hämoglobin als Säurehämatin oder als Kohlenmonoxyd-Hämoglobin (**Hoppe-Seyler**) bestimmen würde. Bei der Säurehämatinmethode stellte sich jedoch heraus, daß die Farbenintensität je nach der Zeit der Ablesung stark differiert und durch andere im Reaktionsvolum enthaltene Stoffe erheblich beeinflußt wird. Andererseits ist es bei Serienuntersuchungen sehr unangenehm, die zu prüfenden Flüssigkeiten immer mit Leuchtgas zu sättigen. Ich beschränkte mich daher darauf, mit der Kohlenmonoxydmethode nur die Konstanz meiner Testflüssigkeit zeitweilig festzustellen und im übrigen in der oben angegebenen Weise zu arbeiten. Auf nähere Details meiner Beobachtungen über kolorimetrische Methodik werde ich an anderer Stelle zurückkommen.

Tabelle I.
Komplementlösung menschlicher Sera.

	Menge des Menschen- serums ccm	Menge des zuge- setzten hämol. Amboz. ccm	Verdün- nung des zuge- setzten hämol. Amboz.	Menge des gelösten Hämoglobins in Prom.							
				Bezeichnung der Menschensera							
				1	2	3	4				
				Hammelblutkörperchensuspension 0,5 ccm							
				10%	30%	10%	30%	10%	30%	10%	30%
Menschenserum	0,05	0,5	1: 100	2,87	5,06	3,25	9,50	3,87	8,12	4,12	8,50
			1: 200	3,94	7,25	3,12	7,65	3,50		4,37	9,50
			1: 400	3,67	8,50	3,25	.	3,67	8,75	4,37	10,00
			1: 800	.	.	3,50	6,24	3,37	8,50	4,37	11,24
			1: 1600	3,94	10,00	3,75	6,24	3,50	8,12	4,50	.
	0,1	0,5	1: 100	4,62	.	3,37	6,24	3,67	.	4,75	11,00
			1: 200	4,00	.	4,75	9,00	4,25	.	4,25	12,00
			1: 400	4,12	.	4,87	12,70	4,25	.	3,75	
			1: 800	4,50	.	5,12	13,20	4,87	.	.	13,50
			1: 1600	4,62	.	4,75	11,20	.	.	.	13,00
	Menge des Meer- schw.- Serums ccm	Menge des zuge- setzten hämol. Amboz. ccm	Verdün- nung des zuge- setzten hämol. Amboz.	Verdünnung des benutzten Meersch.-Serums							
				1: 10	1: 20	1: 40					
				Hammelblutkörperchensuspension 0,5 ccm							
				10%	30%	10%	30%	10%	30%		
Meersch.- Serum	0,5	0,5	1: 100	4,37	11,20	4,00	9,00	2,87	3,00		
			1: 200	4,87	12,50	.	9,37	3,25	.		
			1: 400	5,00	14,00	3,50	11,20	3,25	4,62		
			1: 800	6,62	14,70	3,67	11,45	3,12	4,25		
			1: 1600	7,87	14,50	3,25	10,24	3,00	2,25		

Resultat der HHR. für Luesserum No. 1 —; No. 2 —; No. 3 +++; No. 4 —.

Eine erste Versuchsserie ist in der Tabelle I wiedergegeben und bezieht sich nur auf die kolorimetrische Auswertung einfacher hämolytischer Systeme. Das Reaktionsvolum betrug stets 2,5 ccm, wie dies bei der Wassermannschen Reaktion üblich ist. Der Ambozeptor wurde von der 2-fachen bis zur 16-fach lösenden Dosis variiert, von Hammelerythrozyten 0,5 ccm einer 10- bzw. 30-proz. Suspension zugesetzt. Als Komplement dienten in der oberen Hälfte der Tabelle vier verschiedene Menschensera (zu 0,05 und 0,1 ccm), in der unteren ein Meerschweinchen Serum in Mengen von 0,0125, 0,025 und 0,05 ccm. Die Zahlen bedeuten die aus

den Kolorimeterablesungen berechneten Mengen der gelösten Erythrozyten ¹⁾ in Promille.

Betrachten wir die hämolytischen Effekte, wie sie in den verschiedenen Kombinationen auftraten, so sehen wir, daß dieselbe absolute Menge komplettierenden Serums in der gleichen Konzentration ihre hämolytische Wirkung oft verdoppeln, ja bisweilen fast verdreifachen kann, wenn die Erythrozytenmenge verdreifacht wird, wobei bemerkt werden muß, daß auch bei Gegenwart geringerer Mengen Blut ein Teil desselben ungelöst blieb, daß also stets genug Erythrozyten vorhanden waren. Damit ist bewiesen, daß wir bei den Faktoren der Hämolyse überhaupt, und bei den komplementhaltigen Sera im besonderen nicht das Recht haben, von volumetrisch meßbaren Quantitäten wirksamer Stoffe zu sprechen, sondern nur von Wirksamkeiten oder Wirkungsstärken der fraglichen Substrate; durch quantitative Messungen festzustellen, ob mehr oder weniger „wirksame Substanz“ einen beobachteten Effekt hervorbringt, ist derzeit schon deshalb ausgeschlossen, weil sich auch bei gleichbleibender Konzentration der wirksamen Stoffe die Reihenfolge der Wirkungsgrößen umkehren kann, wenn man etwas an den sonstigen Mischungsverhältnissen ändert. Z. B.: Nach Tabelle I hämolysiert das Menschenserum I schwächer als II und III, enthält also „weniger Komplement“, wenn man mit 10-proz. Hammelblut und 1:100 Ambozeptor prüft; mit 30-proz. Hammelblut und 1:1600 Ambozeptor ist das Resultat gerade umgekehrt, da enthält nach der gebräuchlichen Terminologie das Serum I die größte „Komplementmenge“.

Wenn wir jetzt an die Interpretation der Tabelle I schreiten, so ergibt ein allgemeiner Vergleich der Zahlengrößen, daß die komplettierende Wirkung des aktiven Menschenserums fast ebenso groß oder sogar noch größer sein kann als die des benutzten Meerschwein-

1) Die Kalibrierung der Autenriethschen Skala erfolgte in der Weise, daß ich von meiner Testlösung (12,5 ccm Blut auf 1000 ccm destilliertes Wasser) bestimmte Verdünnungen (1:10, 2:10 usw.) herstellte und mit der Testlösung verglich. Die zwischen den so erhaltenen Skalenteilen liegenden Werte der Hammelblutkonzentrationen wurden berechnet.

chenserums; erstere spielt sonach bei der HHR. zweifellos eine Rolle und darf bei jenen Methoden, welche mit aktivem Patientenserum arbeiten, nicht einfach vernachlässigt werden¹⁾.

Was den Einfluß der Variierung der Menge der hämolytischen Immunserums („Ambozeptors“) anlangt, so äußert sich derselbe verschieden, je nachdem zur Komplettierung Menschen- oder Meerschweinchenserum benutzt wurde.

a) Beim Menschenserum bewirkt eine Steigerung der zugesetzten Menge hämolytischen Immunserums auf das 16-fache nur geringe Verschiebungen der lytischen Effekte, solange es sich um 10-proz. Erythrozytensuspensionen handelt; in 30-proz. Aufschwemmungen sind die hervorgerufenen Veränderungen stärker, aber nicht bei allen Sera gleichsinnig. Beim Menschenserum 1 und 4 sinkt die Menge der ausgetretenen Hämoglobins mit wachsendem „Ambozeptor“, bei Serum No. 2 steigt sie, und Serum No. 3 hat bei mittlerer Ambozeptorkonzentration (1 : 400) ein Maximum. Wahrscheinlich hängt das wechselnde Verhalten der Menschensera mit ihrem eigenen Gehalt an Normalambozeptor für Hammelerythrozyten und mit der Agglutination der roten Blutkörperchen zusammen.

b) Beim Meerschweinchenserum werden die lytischen Effekte durch Variation des Immunchämolsins relativ wenig alteriert. Ambozeptorkonzentrationen, welche 1 : 400 übersteigen, setzen die Lyse stets herab, wahrscheinlich infolge der Agglutination der Erythrozyten. Das Optimum der Lyse wird einerseits von der Menge des Immunserums, andererseits von der Konzentration des Meerschweinchenserums beeinflusst; bei einer Verdünnung des Meerschweinchenserums von 1 : 40 wirkt die Ambozeptormenge 1 : 400 optimal, bei 1 : 20 die Ambozeptormenge 1 : 800 und bei 1 : 10 die Ambozeptormenge 1 : 800—1600.

1) Auch der Einwand, daß die komplettierende Wirkung der Menschensera nicht in Rechnung gestellt werden muß, weil sie stets eine annähernd gleiche Größe darstellt, trifft nicht zu; abgesehen davon, daß schon die vier beschriebenen Sera Unterschiede aufweisen, kommt es auch vor, daß Menschenserum in manchen Fällen den Kaninchenambozeptor gegen Hammelblut überhaupt nicht komplettiert. Auch ist die komplettierende Wirkung der Patientensera sehr von der Art der Aufbewahrung derselben abhängig.

Erhöhte Dichtigkeit der Erythrozytensuspension vermehrt stets die Menge des ausgetretenen Hämoglobins, sowohl beim Menschen- wie beim Meerschweinchenserum, allerdings je nach den besonderen Reaktionsbedingungen in verschiedenem Grade. Es soll hier auf dieses Verhalten nicht weiter eingegangen und nur hervorgehoben werden, daß von der Dichte der Blutsuspensionen auch die Differenz in der komplettierenden Wirkung von Menschen- und Meerschweinchenserum abhängt. In einer 30-proz. Aufschwemmung löst 0,025 ccm Meerschweinchenserum weit stärker als 0,05 ccm Menschenserum; in den 10-proz. Suspensionen gleicht sich die Differenz aus oder es gewinnt sogar das Menschenserum in manchen Proben das Uebergewicht. Nun sind die Hammelblutsuspensionen, die man zur Anstellung der Wassermannschen Reaktion zu benutzen pflegt, meist noch weniger dicht als jene, welche ich als 10-proz. bezeichne, so daß die komplettierende Wirkung von 0,05 ccm Menschenserum (der üblichen Dosis) noch stärker zur Geltung kommen bzw. an die Wirkungen höherer Konzentrationen von Meerschweinchenserum heranreichen muß.

Tabelle I liefert uns also eine ganze Reihe indirekter Beweise, daß die Resultate bei der gebräuchlichen Technik der Wassermannschen Reaktion von der komplettierenden Wirkung der im aktiven Zustande zugesetzten Patientensera beeinflußt werden können. Daß dies tatsächlich der Fall ist, läßt sich aber auch direkt feststellen.

Zunächst können wir ein direktes Argument bereits unserem bisherigen Wissen entlehnen. Es ist bekannt, daß manche Sera, welche, bald nach der Entnahme untersucht, nur schwach „positiv“ reagieren, 24 Stunden später die Hämolyse weit stärker hemmen; und da wir andererseits beobachten, daß die komplettierende Wirkung während dieser Zeit abnimmt, so liegt es nahe, darin die Ursache des geänderten Reaktionsablaufes bei abgelagerten Sera zu suchen. Doch ist dieser Erklärungsversuch immerhin hypothetisch; der exakte Nachweis, daß luetische Sera im inaktivierten Zustande stärker wirken können als im aktiven, ließ sich nur durch dahin abzielende Experimente erbringen, die, unter gleichen Mengenverhältnissen angestellt eine quantitative Messung des

Reaktionseffektes gestatteten. Ich wandte hierbei die gleiche kolorimetrische Methodik an, wie in den Versuchen der Tabelle I; Menschenserum, Organextrakt und Meerschweinchenserum wurden so dosiert, wie das die am häufigsten benutzten Vorschriften für die HHR. verlangen.

Tabelle II.

Quantitative Bestimmung der Hemmungsstärke luetischer und nichtluetischer Sera im aktiven und inaktiven Zustande.

Menge des Menschen- serum	Konz. des Antigens	Luetische Sera				Konz. des Antigens	Nichtluetische Sera			
		Serum No.					Serum No.			
		3		6			4		7	
		aktiv	inaktiv	aktiv	inaktiv		aktiv	inaktiv	aktiv	inaktiv
0,5 ccm	1 : 10	11,1	3,9	2,50	2,40	1 : 5	9,5	17,5	15,8	17,7
	1 : 50	19,0	7,0	15,0	9,75	1 : 4	5,9	15,6	13,7	16,2
	1 : 75	19,5	11,0	16,6	11,5	1 : 3	5,4	13,7	10,5	14,0
	1 : 100	22,0	12,7	15,0	11,6	1 : 2	0	0	0	0
	S. K.	26,4	21,0	24,0	18,0	S. K.	19,7	20,6	24,1	17,8
0,1 ccm	1 : 10	17,2	1,87	5,8	0	1 : 5	20,0	17,2	14,8	17,2
	1 : 50	24,4	6,75	17,1	7,1	1 : 4	18,2	14,6	.	14,5
	1 : 75	26,4	9,5	20,5	10,0	1 : 3	11,3	14,6	10,5	13,6
	1 : 100		12,7	22,4	10,6	1 : 2	0	0	0	0
	S. 10	25,2	22,5	25,6	17,5	S. K.	28,2	20,5	25,0	18,0
0,2 ccm	1 : 10	23,5	1,8	10,6	.	1 : 5	27,0	.	23,3	14,0
	1 : 50	26,0	5,5	23,5	4,6	1 : 4	25,0	.	22,8	13,0
	1 : 75	25,0	10,3	24,8	6,9	1 : 3	20,7	11,0	20,1	10,9
	1 : 100	28,2	11,7	25,2	6,3	1 : 2	0	0	0	0
	S. K.	34,4	22,4	34,0	15,5	S. K.	33,0	18,7	30,0	16,6

Gelöste Hammelblutmenge in Prom.

Gelöste Hammelblutmenge in Prom.

Meerschweinchenserum 0,5 ccm von der Verdünnung 1 : 20.

Organextrakt 0,5 ccm in den angegebenen Verdünnungen.

Hämolytisches Serum 0,5 ccm 1 : 250.

Hammelblutkörperchen 0,5 ccm in 20-proz. Suspension.

Gesamtvolumen 2,5 ccm.

Die hier analysierten Luessera No. 3 und 6 gaben also im inaktiven Zustande schwächere Lyse oder — was dasselbe ist — hemmten stärker als im aktiven, Komplementhaltigen. Die Differenzen zwischen aktiv und inaktiv waren beträchtlich, bei Serum No. 3 stärker als bei Serum No. 6, und wuchsen im allgemeinen mit der konzentration des Luesserums und des Antigens im Reaktionsvolum; bei Serum No. 3 (in der Menge

von 0,2 ccm und einer Antigenkonzentration 1 : 10) betrug der Unterschied zwischen dem lytischen Endeffekt der Wassermannschen Reaktion mit aktivem und jenem mit inaktiviertem Serum das Dreizehnfache. Untersucht man, warum die Steigerung der Konzentration dieser Luetikersera die Differenz zwischen „aktiv“ und „inaktiv“ (auch bei gleichbleibender Antigenkonzentration) so erheblich vermehrte, so findet man die Ursache leicht in der auch an sich interessanten Erscheinung, daß die Lyse bei Vermehrung der aktiven Serummenge zunahm, bei wachsender Konzentration des inaktiven Serums abnahm. Wir können das auch so ausdrücken, daß wir sagen, daß beim aktiven Luetikerserum steigende Konzentrationen *ceteris paribus* die hemmende Wirkung reduzieren, beim inaktiven verstärken können. Aus diesem Verhalten aktiver und inaktiver Sera von luetischen Individuen geht hervor, daß sich im inaktiven Serum nur die hemmende Komponente am Endergebnis beteiligt, beim aktiven auch die hämolytische (den Immunambozeptor oder vorhandene Normalambozeptoren komplettierende), wobei (in den angeführten Fällen!) die Steigerung der hämolytischen Komponente das Anwachsen der hemmenden im Reaktionsvolum überkompensierte.

Auch bei den nichtluetischen Sera No. 3 und 7 ist die Beeinflussung des endgültigen Reaktionsergebnisses durch den hemmenden und den hämolytischen Faktor deutlich. In den schwächeren Serumkonzentrationen hemmten die aktiven Sera stärker, in den stärkeren die inaktivierten, weil eben die hämolytische Komponente der Aktivsera mit wachsender Konzentration das Uebergewicht erlangte. Es könnte noch auffallen, daß die hier beschriebenen nichtluetischen Sera (im Gegensatz zu den luetischen) die Hämolysen im inaktivierten Zustande weniger hemmten als im aktiven, wenigstens unter bestimmten Reaktionsbedingungen, was höchstwahrscheinlich auf der Intervention von Normalambozeptoren beruhen dürfte; da der Einfluß der letzteren aber gegenüber der hämolytischen Wirkung der Aktivsera nur gering zu taxieren ist, so erklärt sich damit das so wesensverschiedene Verhalten der nichtluetischen Sera in verschiedenen Konzentrationen.

Am meisten interessiert uns hier jedoch der Vergleich der luetischen und nichtluetischen Sera im aktiven und im inaktivierten Zustande untereinander; dieser Vergleich muß uns darüber belehren, ob die Wassermannsche Reaktion mit aktivem oder mit inaktiviertem Serum empfindlicher ist und spezifischer ausfällt. Wir wollen uns dabei an die analysierten Beispiele halten und auf die Antigenkonzentration 1:10 bei den luetischen, 1:5 bei den nichtluetischen Sera beschränken.

Definieren wir die Spezifität der Wassermannschen Reaktion als die Differenz der endgültigen Hemmungen, welche die Hämolyse bei Verwendung luetischen und nichtluetischen Serums erfährt, so können wie aus der Tabelle II ohne weiteres entnehmen, daß diese Differenz größer war, wenn wir die untersuchten Sera inaktivierten, als wenn wir dieselben im aktiven Zustande prüften. Unter der hier zugrunde gelegten Voraussetzung, daß wir die Antigenkonzentration im Reaktionsgemisch der nichtluetischen Sera doppelt so hoch halten wie bei den luetischen Sera, waren die Hemmungen (an den Hämoglobinwerten gemessen) bei inaktiven Sera viermal so stark bei Luetikern wie bei Nichtluetikern; beim Arbeiten mit aktivem Serum ergaben sich sogar negative Spezifitätswerte, d. h. die luetischen Sera hemmten dann schwächer als die nichtluetischen.

Damit erscheint bewiesen, daß die Verwendung aktiver Sera die Resultate der Wassermannschen Reaktion sehr stark beeinflussen kann. Daß dies aber durchaus nicht immer der Fall sein muß, sei zur Vermeidung von Mißverständnissen ausdrücklich betont.

Wenn wir uns nun die Aufgabe stellen, die hämolytischen (komplettierenden) und die hemmenden Wirkungen der Menschensera an einer größeren Anzahl von Serumproben gesondert zu bestimmen, so kann dies nur so geschehen, daß wir die hämolytische Komponente durch den Inaktivierungsprozeß ausschalten, da eine Elimination der hemmenden Fähigkeiten bei intakter komplettierender Kraft derzeit unmöglich ist; die Differenz zwischen der Intensität der Hemmung durch das gleiche Serum im aktiven Zustande kann uns allein

die gewünschten Aufschlüsse liefern. Theoretisch sind drei Möglichkeiten denkbar:

1) Ein unregelmäßiges Verhalten insofern als dasselbe Serum je nach seiner Konzentration und den sonstigen Reaktionsbedingungen bald aktiv bald inaktiv stärker hemmt. Hierfür bietet das Serum 4 in Tabelle II ein Beispiel.

2) Daß luetische oder nichtluetische Sera im inaktiven Zustande durchwegs stärker hemmen als im aktiven (Sera 3 und 6 in Tabelle II) oder

3) daß luetische oder nichtluetische Sera umgekehrt im aktiven Zustande die Hämolyse intensiver hemmen als im inaktiven.

Die ersten zwei Fälle scheinen zu den Ausnahmen zu gehören, der dritte stellt die Regel dar, was ja für Luessera — wie schon hervorgehoben — vielfach beschrieben ist. Für nichtluetische Sera wollen wir dieses Verhalten speziell prüfen, da es eine prinzipielle Bedeutung in einer bisher wenig gewürdigten Richtung besitzt. Tabelle III zeigt das Ergebnis einer Reihe von HH.-Reaktionen, die mit 11 verschiedenen Menschensera im aktiven und inaktiven Zustande und im allgemeinen nach dem Typus der Wassermannschen Reaktionen angestellt wurden. Nur benutzte ich die von mir angegebene Mikromethode, um jedes Serum in allen Versuchsvarianten prüfen zu können; da man für diese Technik nur 0,01 ccm des zu untersuchenden Serums pro Röhrchen benötigt, so findet man mit relativ kleinen Mengen das Auslangen und braucht nicht stärkere Blutentziehungen vorzunehmen.

Die zugesetzten Antigenquanten (Extrakt aus Rinderherz mit 96-proz. Alkohol) variierten, und bedeuten die Ziffern 1—5 den Verdünnungsgrad:

Verdünnung	1	enthielt	1 Teil Extrakt	+	2 Teile NaCl		
„	2	„	1	„	„	+ 2,2	„ „
„	3	„	1	„	„	+ 2,5	„ „
„	4	„	1	„	„	+ 3,0	„ „
„	5	„	1	„	„	+ 4,0	„ „

Von diesen Antigenverdünnungen kamen in jedes Spitzgläschen 0,05 ccm; die übrigen Details der Versuchsanordnung sind aus der Tabelle selbst zu entnehmen.

Tabelle III.

Hämolysehemmung aktiver und inaktiver nichtluetischer Sera.

Prot. No.	Serum- menge	Antigen + kompl. Mischung	Hammel- blut + Amb.- Mischung	aktiv					inaktiv				
				Antigenverdünnungen									
				1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
540	0,01 ccm	0,05 ccm Antigen - Ver- dünnung + 0,05 ccm 1 : 20 Meerschweinchen- serum	0,05 ccm 5 proz. Hammel- blut, 0,05 ccm, 2 1/2 -fache lötende Dosis Amb.	##	##	##	##	(#)	+	(+)	(-)	-	-
495				##	##	##	##	(#)	(+)	(-)	(-)	-	-
496				##	##	##	##	##	(+)	(-)	(-)	-	-
498				##	##	##	##	##	(+)	(-)	(-)	-	-
500				##	##	##	##	(#)	+	(-)	(-)	-	-
502				##	##	##	##	(#)	(+)	(-)	(-)	-	-
504				##	##	##	##	(#)	(#)	+	(-)	-	-
506				##	##	##	##	(#)	+	(-)	(-)	-	-
507				##	##	##	##	(#)	+	(+)	(-)	(-)	-
508				##	##	##	##	(#)	(#)	+	(+)	(-)	-
509				##	(-)	(#)	+	(-)	-	-			

Ablesung der Resultate:

- ## bedeutet vollkommene Hemmung der Hämolyse,
 (##) bedeutet fast vollkommene Hemmung der Hämolyse,
 + bedeutet starke Hemmung der Hämolyse,
 (+) bedeutet schwache Hemmung der Hämolyse,
 (-) bedeutet Spur Hemmung der Hämolyse,
 - bedeutet vollkommene Hämolyse.

Es zeigt sich also, daß nichtluetische Sera genau so wie luetische im aktiven Zustande meist stärker hemmen als im inaktivierten, daß man demnach die Spezifität der luetischen Sera nicht so auffassen darf, daß sie sich von den nichtluetischen qualitativ unterscheiden, sondern daß lediglich eine quantitative Differenz existiert in dem Sinne, daß die normalen hemmenden Eigenschaften der Sera durch den luetischen Krankheitsprozeß eine Steigerung erfahren. Die HHR. gestattet also nicht, luetische und nichtluetische Sera scharf zu scheiden, indem sie etwa eine Trennung in „hemmende“ und „lösende“ Sera ermöglicht; sie deckt nur Unterschiede der hemmenden Kraft auf, die allerdings in manchen Fällen das Zehntausendfache betragen, die aber auch viel kleiner sein können und gerade dann meist auch kleiner sind, wenn der Reaktionsausfall für die klinische Diagnose besondere Wichtigkeit hat. Wir müssen daher trachten, die Grenze zwischen physiologischer und pathologischer Hemmung möglichst scharf

zu ziehen; und da es sich nicht um eine einfache, sondern um eine sehr komplizierte Reaktion handelt, bei der eine stattliche Reihe von Faktoren interveniert und das Endergebnis beeinflußt, so werden wir von selbst dazu gedrängt, die Reaktionsbedingungen so zu gestalten, daß der Umschlag von „negativ“ in „positiv“, von Lyse in Nichtlyse tunlichst an jener Grenze stattfindet.

Nach allem, was über die verschiedenen Ergebnisse mit aktiven und inaktiven Menschensera gesagt wurde, erweist es sich als notwendig, zunächst den Inaktivierungsprozeß als solchen zu untersuchen. Wir sind bisher von der stillschweigenden Voraussetzung ausgegangen, daß das „Inaktivieren“ einen stets konstanten Eingriff darstellt, der immer nur identische Veränderungen setzt; ob dies zutrifft, speziell in Hinsicht auf die Wassermannsche Reaktion, wollen wir nun experimentell prüfen.

Das Inaktivieren der Patientensera fand bei der Technik der Wassermannschen Reaktion zunächst nur aus dem Grunde Anwendung, weil man den Komplementgehalt dieser Sera zerstören wollte; deshalb wählte man auch die Temperatur von 56° C und die Einwirkungsdauer von 1/2 Stunde, wie dies Nuttall für solche Zwecke angegeben hatte. Erst später hat es sich herausgestellt, daß dabei nicht nur die komplementierende Fähigkeit zerstört wird, sondern daß daneben auch eine „Abschwächung der Reagine“ stattfindet; gerade dieser Vorgang wurde dann nachträglich als der für den Reaktionsmechanismus wesentlichere erklärt, indem man sich vorstellte, daß durch denselben die Sera „spezifischer“ werden, d. h. nur bei einem starken, für Lues charakteristischen Ueberschuß an „Reagin“ auch nach dem Inaktivieren noch die Hämolyse hemmen. Es müßte nun in der Tat als ein höchst merkwürdiger Zufall betrachtet werden, wenn der ursprünglich in ganz anderer Absicht eingeführte Modus der Inaktivierung auch seiner geänderten Bestimmung optimal entsprechen würde.

Tabelle IV gibt Versuche wieder, bei welchen 12 Lucssera teils aktiv, teils nach der Erwärmung auf 40, 45, 50, 55 und 60° C der Wassermannschen Reaktion (Mikromethode) unterworfen wurden. Die Inaktivierungstemperaturen wirkten auf jede Fraktion des Serums 1/2 Stunde ein.

Tabelle IV.

Serum No.	Aktive Sera			$\frac{1}{2}$ Stunde lang inaktivierte Wassermann + -Sera bei					
				40°		45°			
1	#	#	#	#	#	#	#	#	#
2	#	#	#	#	#	#	#	#	#
3	#	#	#	#	#	#	#	#	#
4	#	#	#	#	#	#	#	#	#
5	#	#	#	#	#	#	#	#	#
6	#	#	#	#	#	#	#	#	#
7	#	#	#	#	#	#	#	#	#
8	#	#	#	#	#	#	#	#	#
9	#	#	#	#	#	#	#	#	#
10	#	#	#	#	#	#	#	#	#
11	#	#	#	#	#	#	#	#	#
12	#	#	#	#	#	#	#	#	#

Serum No.	$\frac{1}{2}$ Stunde lang inaktivierte Wassermann + -Sera bei					
	50°		55°		60°	
1	#	#	#	#	#	#
2	#	#	#	#	#	#
3	#	#	#	#	#	#
4	#	#	#	#	#	#
5	#	#	#	#	#	#
6	#	#	#	#	#	#
7	#	#	#	#	#	#
8	#	#	#	#	#	#
9	#	#	#	#	#	#
10	#	#	#	#	#	#
11	#	#	#	#	#	#
12	#	#	#	#	#	#

Das Antigen (Organextrakt) wurde konstant gehalten; die Menge des zu untersuchenden Luesserums wurde in nachstehenden Abstufungen variiert:

0,01	ccm,	0,000625	ccm,	0,000035	ccm
0,005	„	0,00031	„	0,000017	„
0,0025	„	0,00015	„		
0,00125	„	0,00007	„		

Das Reaktionsvolum betrug 0,22 ccm.

Die untersuchten Sera wirkten also im erhitzten (inaktivierten), Zustande schwächer hemmend als im aktiven (nicht erhitzten) und zwar nahm die Hemmungsstärke mit dem Grade des Erhitzens bei jedem einzelnen Serum ab. Die hemmenden Eigenschaften ließen jedoch bei verschiedenen Sera einen verschiedenen Grad von Thermolabilität erkennen, indem bei manchen Sera die hemmende Kraft erst durch Temperaturen 50—60° C erheblicher reduziert wurde, während bei anderen schon 40—50° C die Hemmung ganz oder fast ganz zum Verschwinden brachten. Im allgemeinen hing dies davon ab, wie hoch die hemmende Fähigkeit bei dem Originalserum entwickelt war; von vornherein stark hemmende Sera verloren diese Fähigkeit erst bei höheren Temperaturen als solche, die schon vor dem Erhitzen nur in stärkeren Konzentrationen das Zustandekommen der Lyse verhinderten. Es ist klar, daß die Inaktivierungstemperatur von 56° C nicht gerade als zweckmäßig bezeichnet werden kann; sie liegt gerade in dem Bereiche, in welchem auch an sich stark hemmende (im diagnostischen Sinne hochpositive) Sera erhebliche Einbußen ihrer Hemmungswirkung erfahren und wo schon kleine Temperaturdifferenzen beim Inaktivieren solcher Sera das Reaktionsergebnis verändern können.

Ueber den zeitlichen Ablauf des „Inaktivierens“ haben schon Thomsen und Boas genauere Angaben gemacht, aus denen erhellt, daß die hauptsächlichsten Veränderungen in den ersten Minuten stattfinden und daß später das Absinken der Hemmungsstärke nur langsam und allmählich erfolgt. Auf Grund der in Tabelle V wiedergegebenen Experimente kann ich diese Beobachtungen nur bestätigen; sie lehren, daß die Zeitdauer des Inaktivierens insofern rationell genannt werden kann, als Abweichungen nach oben oder unten keine besonderen Störungen zur Folge haben werden.

Die Sera wurden bei 56° inaktiviert

[illegible]

40 Minuten

[illegible]

Zusammenfassung.

Aus den vorliegenden Untersuchungen, die nur einen ergänzungsbedürftigen Teil meiner Arbeiten über die Wassermannsche Reaktion darstellen, kann zunächst gefolgert werden, daß der Spezifität der HHR. (Wassermannsche Reaktion) bei Lues ebensowenig eine qualitative Veränderung des menschlichen Serums zugrunde liegt wie den Präzipitations- oder Agglutinationsreaktionen.

Wir müssen daher auch hier die quantitativen Unterschiede zwischen physiologisch und pathologisch (oder zwischen nichtluetisch und luetisch) feststellen (d. h. den diagnostisch verwertbaren Teil der Hemmungszone bestimmen). Während die Erfüllung dieser Forderung jedoch bei der Agglutination und Präzipitation, an welchen sich im Wesen nur zwei inkonstante Reaktionskomponenten beteiligen, relativ leicht ist, begegnet sie hier bei der großen Zahl der von einander abhängigen Variablen außerordentlichen Schwierigkeiten. Letztere müssen indes überwunden werden, entweder durch eine Reform der Technik oder durch messende Untersuchungen anderer Art als die bisher in der Serologie üblichen, da sich sonst Differenzen in den Ergebnissen der Reaktion nicht vermeiden lassen.

Was speziell die Wahl aktiver oder inaktiver Methoden anlangt, so können wir unseren Standpunkt in folgender Form präzisieren:

Bei den aktiven Methoden spielt die komplettierende Wirkung des Patientenserums eine verschiedene und im voraus nicht berechenbare Rolle. Die Zahl der Variablen ist also bei den aktiven Methoden größer als bei den inaktiven, die Resultate müssen schwankender sein; auch ist bei den aktiven Methoden der Prozentsatz der unspezifischen Reaktionen entschieden größer als bei den inaktiven, was von vielen Seiten betont wurde. Daß aktive Methoden mehr „positive“ Resultate geben, also empfindlicher sind als inaktive, trifft, wie wir uns überzeugen konnten, nicht durchwegs zu, eben wegen des Einflusses des Eigenkomplementes; übrigens erkaufte man die erhöhte Empfindlichkeit mit der Einbuße an Spezifität.

Die inaktiven Sera haben nicht nur kein Komplement, sondern auch eine schwächere Hemmungskraft, als ihnen ohne

Erhitzen zukommt. Letzterem Defekt läßt sich aber dadurch abhelfen, daß man mehr Serum zusetzt (in konzentrierteren Serumlösungen arbeitet); die Reaktion wird dadurch empfindlicher, indem dann auch inaktive Sera „positive“ Befunde liefern, während sie in geringeren Mengen (verdünnteren Lösungen) „negativ“ reagieren würden. Die Spezifität leidet unter diesen Verhältnissen nicht, da ja auch nichtluetische Sera durch das Inaktivieren in ihrem Hemmungsvermögen meist geschwächt werden, gerade so wie luetische. Mit anderen Worten, man hat bei den inaktiven Methoden das störende Eigenkomplement ausgeschaltet, muß aber durch Steigerung der Konzentration der untersuchten Sera dem Umstande Rechnung tragen, daß sich die diagnostisch verwertbare Hemmungszone nach oben verschoben hat.

Wenn auch damit nicht alle Einflüsse des Inaktivierens erschöpft sind, so spricht doch alles dafür, daß sich zur Ausführung der Wassermannschen Reaktion in erster Linie eine genügend empfindliche inaktive Methode eignet.

Die in manchen Laboratorien eingebürgerte Gepflogenheit, neben einer inaktiven auch stets eine aktive Methode anzuwenden, oder mit mehreren Antigenen zu arbeiten, kann nur gutgeheißen werden. In den Naturwissenschaften gilt ja überhaupt der Satz, daß die Wahrscheinlichkeit eines Fehlers um so geringer wird, je zahlreicher und verschiedenartiger die Wege sind, auf welchen das gleiche Resultat gewonnen werden kann. Dieses Prinzip sollte man auf die Wassermannsche Reaktion anwenden, bei der so viele variable Faktoren das Ergebnis mitbedingen, solange nicht eine tiefere Einsicht in das Wesen der Reaktion und der ihr zugrunde liegenden luetischen Serumveränderungen eine Vereinfachung gestattet. Es wäre also am zweckmäßigsten, eine empfindliche inaktive und daneben eine spezifische aktive Methode zu benutzen und beide mit verschiedenen Antigenen auszuführen. (Detailiertere Weisungen in dieser Richtung werde ich an anderer Stelle geben.)

Liefern beide Methoden dasselbe Ergebnis, so besitzt dasselbe eine an Sicherheit grenzende Wahrscheinlichkeit. Stimmen die Resultate nicht überein, so muß zunächst die Möglichkeit eines Arbeitsfehlers ausgeschlossen werden; kann dies ge-

schehen, so richtet sich die Abgabe des Befundes danach, ob die inaktive oder die aktive Methode das positive Ergebnis geliefert hat.

War das Resultat mit inaktivem Serum positiv, mit aktivem negativ, so ist der Befund positiv auszustellen. Daß in einem solchen Falle nicht etwa Lepra, eine Trypanose oder dergleichen vorliegt, muß der Kliniker ausschließen.

Im gegenteiligen Falle (aktiv positiv, inaktiv negativ) muß das Ergebnis als zweifelhaft bezeichnet und die Wiederholung der Reaktion dem Kliniker vorgeschlagen werden.

Bei genügend feiner Einstellung der Technik werden sich Fälle von Nichtübereinstimmung der Resultate mit aktivem und inaktivem Serum nicht allzuoft ergeben. Am häufigsten dürfte es sich ereignen, daß im Primärstadium der Lues die aktive Methode früher ein positives Resultat ergibt als die inaktive (Boas); hier steht aber der Spirochätennachweis zur Verfügung, und wenn dieser nicht erbracht werden kann, so hat man doppelten Anlaß, in der Beurteilung des Ergebnisses alle Vorsicht walten zu lassen. (G. C.)

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Budapest.]

Ueber Agglutination homologer und heterologer Antigene durch Immunsera.

Von L. v. Liebermann und D. Acél.

(Eingegangen bei der Redaktion am 14. Dezember 1917.)

In seiner im Jahre 1902 erschienenen Arbeit über „Die Agglutination bei gemischter Infektion und die Diagnose der letzteren“ kommt A. Castellani auf Grund seiner Untersuchungen wörtlich zu folgendem Schluß¹⁾:

„Das Serum eines gegen einen bestimmten Mikroorganismus immunisierten Tieres verliert nach Versetzung mit demselben Mikroorganismus sein Agglutinationsvermögen für diesen sowohl als für alle anderen, die es beeinflusste; mit diesen

1) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 40, p. 17.

letzteren versetzt, verliert es jenes Vermögen für dieselben, nicht aber in erwähnenswertem Grade für den ersteren; mit Mikroorganismen versetzt, die es nicht beeinflußt, bleibt sein Agglutinationsvermögen gänzlich intakt.“

Seit dieser Mitteilung hat der „Castellanische Versuch“ für die Feststellung von Mischinfektionen und im allgemeinen zur Unterscheidung von sogenannten Haupt- und Nebenagglutininen zwar weitgehende Verwendung gefunden, doch gestatten die bisherigen Versuche kein abschließendes Urteil über die quantitativen Verhältnisse bei solchen Reaktionen. Auch hat die Frage nach der Ursache des so verschiedenen Verhaltens homologer und heterologer Mikroorganismen unseres Erachtens bisher keine befriedigende Erklärung gefunden.

Als Resultat unserer eigenen, weiter unten mitgeteilten Versuche hat sich folgendes ergeben:

1) Der Satz, daß agglutinierendes Immunserum nach (erschöpfender) Behandlung mit homologen Mikroorganismen sein Agglutinationsvermögen nicht nur für diese, sondern auch für heterologe verliert, hat keine allgemeine Gültigkeit, denn es gibt Fälle, wo dies nur in unbedeutendem, resp. nur bis zu einem gewissen Grade geschieht.

2) Ebenso wenig hat der andere Satz allgemeine Gültigkeit, daß heterologe Mikroorganismen nur die ihnen entsprechenden Agglutinine binden, die homologen aber nicht in erwähnenswertem Grade beeinflussen sollen, denn es gibt Fälle oder Systeme, wo nach erschöpfender Behandlung des Immunserums mit heterologen Mikroorganismen mehr oder weniger beträchtliche Abnahme des Titors für das homologe Antigen festgestellt werden kann.

3) Sowohl aus unseren eigenen Versuchen, wie aus den ersten von Castellani und nach ihm zahlreicher anderer Autoren geht aber dennoch hervor, daß homologe Antigene zu den in einem Immunserum befindlichen Agglutininen im allgemeinen eine bedeutend stärkere Affinität besitzen als heterologe.

Diese unsere Resultate stimmen vollkommen mit jenen von Luigi d'Amato¹⁾, sowie teilweise auch mit denen von

1) Centralbl. f. Bakt., Bd. 53, p. 337.

Levy und Fornet¹⁾ überein, indem die letzteren Autoren ebenfalls gefunden haben, daß heterologe Antigene nicht nur die ihnen entsprechenden Agglutinine binden, sondern auch die Menge der homologen vermindern können, vorausgesetzt, daß das in Tabelle VIII ihrer Mitteilung angeführte Kaninchen-Immunserum mit dem identisch ist, auf welches sich der in Tabelle XI mitgeteilte Versuch bezieht.

Bezüglich der auffallenden Angaben von A. Posselt und R. v. Sagasser²⁾, die gefunden haben, daß Immunserum nach Behandlung mit homologem Antigen eine bedeutende Vermehrung der heterologen, und umgekehrt nach Behandlung mit heterologen Antigenen eine Vermehrung der homologen Agglutinine erkennen läßt, können wir nur so viel sagen, daß wir solches bei unseren Versuchen nicht beobachtet haben.

Wir lassen nun unsere Versuche folgen und werden am Schluß einen Versuch zur Erklärung des Castellanisches Versuches vorlegen.

Hat der Satz, daß agglutinierende Immunsera nach erschöpfender Behandlung mit homologen Bakterien ihr Agglutinationsvermögen auch für heterologe verlieren, allgemeine Gültigkeit?

Versuch 1.

Immunserum: Choleraimmunserum vom Pferd.

Agglutinationstiter (makroskopisch) für Cholera (homolog) 1:8000.

4 ccm dieses Serums (Verdünnung 1:10) wurden so lange mit Cholera, im ganzen mit 4 gut bewachsenen Schrägagarkulturen behandelt, bis die abzentrifugierte Flüssigkeit Cholera in einer Verdünnung von 1:10 nach 2-stündigem Stehen im Thermostaten nicht mehr agglutinierte.

Das Choleraimmunserum agglutinierte die heterologen Flexner und Typhus vor und nach der erschöpfenden Behandlung mit Cholera, wie folgt:

	Verdünnungen:	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320
Flexner vor der Behandlung	++ ³⁾	++	+	±	±	±	±
„ nach der Behandlung	++	++	±	±	±	—	—
Typhus vor der Behandlung	+	+	+	±	—	—	—
„ nach der Behandlung	±	±	—	—	—	—	—

1) Centralbl. f. Bakt., Bd. 51, p. 161.

2) Wiener klin. Wochenschr., 1903, p. 691.

3) ++ starke, + deutliche, ± schwache, — keine Agglutination. Die makroskopische Beobachtung stimmte mit der mikroskopischen.

In diesem Versuch hat also die Behandlung des Immunserums mit homologem Antigen (Cholera) den Agglutinationstiter für Flexner nur ganz unbedeutend vermindert, den für Typhus aber bis auf ein Minimum gebracht.

Versuch 2.

Immunserum: Typhusimmunserum vom Pferde.

Agglutinationstiter für Typhus: 1:7250.

10 ccm dieses Serums (Verdünnung 1:10) wurden mit 6 $\frac{1}{4}$ Schrägagarkulturen von Typhus behandelt, bis die abzentrifugierte Flüssigkeit Typhus in einer Verdünnung von 1:10 nach 2-stündigem Stehen im Thermostaten nicht mehr agglutinierte.

Das Typhusimmunserum agglutinierte die heterologen Coli, Flexner und Cholera vor und nach der Behandlung mit Typhus, wie folgt:

	Verdünnungen: 1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320
Coli vor der Behandlung	+	+	+	+	±	—
„ nach der Behandlung	±	—	—	—	—	—
Flexner vor der Behandlung	+	+	+	+	+	—
„ nach der Behandlung	+	+	+	+	±	—
Cholera vor der Behandlung	+	+	±	—	—	—
„ nach der Behandlung	—	—	—	—	—	—

In diesem Versuch hat also die Behandlung mit homologem Typhus die Agglutination für Cholera ganz, für Coli fast gänzlich vernichtet, hingegen den Titer für Flexner fast unverändert gelassen.

Es ist also klar, daß die die Aufschrift dieses Absatzes bildende Frage mit nein beantwortet werden muß und daß das Resultat der Behandlung eines Immunserums mit homologem Antigen bezüglich des Titers für heterologe Antigene von der Art der in einem System aufeinander wirkenden Glieder abhängt.

Binden heterologe Mikroorganismen nur die ihnen entsprechenden Agglutinine, ohne die homologen wesentlich zu beeinflussen?

Versuch 3.

Immunserum: gegen Bac. dys. Shiga-Kruse.

Agglutinationstiter für die homologen Shiga-Kruse-Bakterien: 1:1200 = ++, 1:1800 = +, 1:2000 = —. Agglutinationstiter für Typhusbacillen: 1:20 = +, 1:40 = —.

13 ccm des mit physiologischer NaCl-Lösung auf das Zehnfache verdünnten Immunserums, gemischt mit einer gut bewachsenen Schrägagarkultur von Typhusbacillen, wurden in den Thermostaten gebracht. Nach

3, 9 und 23 Stunden wurden je 3 ccm herauspipettiert und zentrifugiert, der Rest unter neuerlicher Zufügung von je einer Schrägagarkultar von Typhus (sie wurde mit dem Serum bzw. Zentrifugaten abgeschwemmt) im Thermostaten belassen.

An den zentrifugierten Lösungen wurde nun folgendes beobachtet: Nach 3 Stunden entsprach der Shiga-Kruse-Titer etwa dem ursprünglichen. Die Abnahme ist also nicht bedeutend, aber immerhin meßbar.

Nach 9 Stunden	Nach 23 Stunden	Nach 48 Stunden
1:1200 = ++	1:1200 = ++	1:1200 = ++
1:1400 = +	1:1400 = +	1:1400 = +
1:1600 = -	1:1600 = -	1:1600 = -

Versuch 4.

Immunserum: gegen Typhus vom Pferd.

Agglutinationstiter Typhusbakterien (homologes Antigen):

1:5200 = ++ 1:6500 = + 1:7000 = -.

Agglutinationstiter für Cholera vibriönen 1:20 = ++, 1:30 = +, 1:40 = -.

20 ccm des mit physiologischer Kochsalzlösung 10-fach verdünnten Immunserums werden mit 2 gut bewachsenen Choleraagarkulturen gemischt in den Thermostaten gebracht. Nach 3, resp. 9 und 23 Stunden, sowie weiter nach 2, 3 und 4 Tagen werden unter jedesmaligem Zufügen von frischer Cholera kultar (je 1 Schrägagar) 3 ccm abpipettiert, zentrifugiert und der Titer der Zentrifugate für homologes Antigen (Typhus) mit folgendem Resultat bestimmt.

Nach 3 Stunden	Nach 9 Stunden	Nach 23 Stunden
1:4000 = ++	1:4000 = ++	1:3000 = ++
1:5000 = +	1:4600 = +	1:4200 = +
1:5200 = -	1:4800 = -	1:4400 = -
Nach 2 Tagen	Nach 3 Tagen	Nach 4 Tagen
1:3000 = ++	1:3000 = ++	1:3000 = ++
1:4200 = +	1:4000 = +	1:4000 = +
1:4400 = -	1:4200 = -	1:4200 = -

Demnach hat der Titer des Typhusimmunserums für homologen Typhus durch vorherige Behandlung mit heterologen Cholera bakterien schon nach 3-stündiger Einwirkung der letzteren bedeutend abgenommen; er ist für starke Agglutination (+,+) von 5200 auf 4000, für schwache (+) von 6500 auf 5000, also etwa um ein Fünftel gesunken. Damit war aber die Grenze noch nicht erreicht, da nach 23 Stunden eine weitere beträchtliche Abnahme, nämlich für starke Agglutination von 5200 auf 3000, für schwache von 6500 auf 4200 stattgefunden hat. Ja, erst nach 3 Tagen war Stabilität festzustellen. Im ganzen kann man sagen, daß durch die Be-

handlung des Typhusimmunserums mit Cholera der Titer für homologen Typhus von 6500 auf 4000, also um mehr als ein Drittel gefallen war.

Versuch 5.

Immunserum: gegen Bac. dys. Flexner.

Agglutinationstiter für Flexner: 1:10000 = ++, 1:13000 = +, 1:13500 = —.

Behandlung dieses Immunserums mit Paratyphus B und weitere Untersuchung geschah so, wie in Versuch 4 beschrieben.

Die Titer der mit heterologem Paratyphus verschieden lange behandelten Immunserumproben für homologe Flexnerbakterien waren folgende:

Nach 2 Stunden	Nach 9 Stunden	Nach 24 Stunden	Nach 3 Tagen
1:10 000 = ++	1:10 000 = ++	1:10 000 = ++	1:9 500 = ++
1:13 000 = +	1:12 500 = +	1:12 500 = +	1:11 500 = +
1:13 500 = —	1:13 000 = —	1:13 000 = —	1:12 000 = —

Die Behandlung des Immunserums Flexner mit Paratyphus B hat also den Titer für Flexner nur wenig geändert.

Als Gesamtergebnis der mitgeteilten Versuche 3, 4, 5 ergibt sich also, daß auch in den quantitativen Verhältnissen der Aufeinanderwirkung verschiedener Kombinationen von Immunseris und heterologer Bakterien Unterschiede bestehen. Es gibt Kombinationen, wo die Wirkung des heterologen Bakteriums auf Immunagglutinine sehr beträchtlich ist, und andere, wo sie, wie in obigem Versuch 5, kaum ins Gewicht fällt.

Versuch einer Erklärung der im vorhergehenden untersuchten Erscheinungen.

Wir nehmen an, daß sämtliche Agglutinine eines Immunserums sowohl mit homologen, wie mit heterologen Antigenen (Mikroben), resp. mit gewissen Bestandteilen ihrer Oberfläche, Verbindungen eingehen, welche die Mikroben mehr weniger stark verkleben.

Während aber die Verbindungen mit homologen Mikroben von der umgebenden Reaktionsflüssigkeit nicht leicht angegriffen werden, werden dagegen solche mit heterologen mehr weniger leicht gelöst. Die Folge ist die, daß die von den Agglutinaten getrennten Flüssigkeiten im ersten Fall (homologe Agglutination) nur mehr wenig, oder gar kein Agglutinin (Agglutininverbindung) enthalten, in letzterem Falle aber even-

tuell so viel, daß sie, mit homologem Antigen versetzt, welches zufolge stärkerer Affinität die gelöste heterologe Agglutininverbindung zersetzt, nahezu denselben Agglutinationstiter für homologes Antigen aufweisen, wie vor der Behandlung mit heterologem Antigen.

Man kann also folgende Fälle unterscheiden:

1. Der Titer für homologe Bakterien ändert sich nicht oder nur sehr wenig nach Behandlung des Immunserums mit heterologen Bakterien. Dann ist die Verbindung zwischen Agglutinin und Bestandteilen der heterologen Bakterien, welche Verbindung wir kurz AH nennen wollen, in der Versuchsflüssigkeit so vollständig löslich, daß der Agglutiningehalt des ursprünglichen Immunserums und der der abzentrifugierten Flüssigkeit praktisch gleich ist. (Versuch 5.)

2. Der Titer für homologe Bakterien ist wesentlich geringer geworden, dann ist AH schwerer löslich, so daß die abzentrifugierte Flüssigkeit nur noch einen Teil der ursprünglichen Agglutininmenge enthält. Je nach der Art der heterologen Bakterien resp. der Immunsera, bzw. nach der Löslichkeit der verschiedenen AH-Verbindungen können hier verschiedene Resttiter beobachtet werden. (Versuch 3 und 4.)

3. Der Titer für homologe Bakterien ist 0 geworden. Dann ist die Verbindung AH praktisch unlöslich. Ob ein solcher Fall wirklich vorkommt, kann von vornherein nicht gesagt werden. Unseres Wissens ist so etwas bisher nur bei Behandlung der Immunsera mit homologen Bakterien beobachtet worden.

Da die Löslichkeit eines Körpers, also auch die von AH, eine nach den Umständen wechselnde ist, z. B. derart, daß eine Flüssigkeit, die schon etwas davon gelöst enthält oder gar nahezu gesättigt ist, in der Zeiteinheit schon weniger zu lösen vermag, als eine, die noch nichts enthält: da also die Löslichkeit von gewissen Gleichgewichtszuständen beherrscht wird, haben wir untersucht, ob aus den agglutinierten heterologen und abzentrifugierten Bakterien bei Behandlung mit frischen Portionen physiologischer Kochsalzlösung weitere Mengen von AH extrahiert werden können, indem wir den Titer dieser abermals abzentrifugierten Lösungen für homologe Bakterien neuerlich bestimmt haben.

Tatsächlich gelingt es auf diese Weise, weitere Mengen AH in Lösung zu bringen, wenn auch nur allmählich und nicht in dem Maße, daß der ganze Titerausfall für homologes Antigen gedeckt erschiene. Weitere Versuche müßten darüber Klarheit verschaffen, von welchen Bedingungen dies abhängt. In einem Versuch haben wir nach zweimaliger Extraktion der agglutinierten heterologen Bakterien mit physiologischer Kochsalzlösung von den fehlenden Agglutinineinheiten für homologe Bakterien etwa $\frac{1}{8} - \frac{1}{4}$ wiedergewonnen.

Wir glauben, daß da etwas Aehnliches stattfindet, wie bei den Versuchen von Landsteiner und Reich¹⁾, die die Tatsache ermittelt haben, daß Normalagglutinine eine bedeutend geringere Avidität besitzen, als Immunagglutinine, und darum auch von den agglutinierten Massen (Blutkörperchen) durch Digestion mit warmer Kochsalzlösung leichter abgespalten werden²⁾. Setzen wir an Stelle von Agglutination durch Normalagglutinine den Ausdruck „nichtspezifische Agglutination“ und nehmen wir an, daß sich letztere, mag sie nun zwischen Normalagglutininen und Mikroben, bzw. Zellen, oder Immunagglutininen und heterologen Antigenen stattfinden, allgemein durch ein lockereres Gefüge und durch leichtere Lösbarkeit desselben auszeichnet, wofür manches spricht, so können wir in den Versuchen von Landsteiner und Reich eine Stütze für unseren oben gegebenen Erklärungsversuch erblicken. (G. C.)

Zusammenfassung siehe p. 326.

1) Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., Bd. 39, p. 712. Siehe auch Paul Th. Müller in Kraus-Levaditis Handb., 1. Ergänzungsband, Ueber Avidität und Aviditätsbestimmung bei Antigenen und Antikörpern, p. 1.

2) Ob das, was in Lösung geht, nun Agglutinin ist, oder aber eine Verbindung desselben, kann jetzt nicht entschieden werden, denn wir können nur feststellen, wie es auch Landsteiner und Reich getan haben, daß die abzentrifugierte Flüssigkeit wieder agglutiniert und wie stark dieses ihr Vermögen ist.

Nachdruck verboten.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des beratenden Hygienikers einer Armee.]

Ueber den Einfluß der Typhusschutzimpfung auf die Züchtbarkeit der Paratyphusbacillen aus Blut.

Von cand. biochem. Traugott Baumgärtel.

Mit 9 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 5. Januar 1918.)

Nach den grundlegenden Experimentaluntersuchungen Pfeiffers über die mit der aktiven Immunisierung erzielte Vermehrung der bakteriziden Antikörper und die bakteriolytische Wirkung derselben auf das homologe Antigen muß der vielfach in der Literatur [Hohlweg (1), Rhein (2), Goldscheider und Kroner (3), Scriba (4), Grundmann (5), Hecker und Hirsch (6), Zinsser und Kathe (7), Schwarz (8), Jacob (9), Fejes (10), Walko (11), Schott (12), Koritschoner (13), Materna (14), Kaup (15), Fürst (16), Seeligmann (17), Reckzeh (18), Kirstein (19), Seiffert (20), Baumgärtel (21), usw.] erörterte Befund eines zahlenmäßig herabgeminderten und zeitlich verzögerten Typhusbacillennachweises im Blute Schutzgeimpfter als Folgeerscheinung der mit dem Impfprozeß verbundenen Immunkörperbildung angesprochen werden. Mit Bezug auf die ausgeprägte biologische Gattungsverwandtschaft der Typhus- und Paratyphusbacillen berechtigt diese Tatsache im weiteren Hinblick auf die immunisatorischen Beziehungen dieser Bakterien zu der Frage, ob die mit der Typhusimpfung erzielte Zustandsänderung des Blutes möglicherweise imstande ist, auch die Entstehungsursache von Hemmungsfaktoren für die Paratyphusbacillenentwicklung zu werden und auf diese Weise einen Einfluß der Typhusschutzimpfung auf die Züchtbarkeit der Paratyphusbacillen aus Blut zum Ausdruck zu bringen.

In dieser Fragestellung liegt mit Rücksicht auf die allgemein [Kolle-Hetsch (22), Dieudonné (23), Marx (24), Müller (25)] anerkannte Spezifität der Typhusimmunkörper weniger die Annahme einer dadurch bedingt ausgesprochenen Bakteriolyse im Sinne des Pfeifferschen Versuches als vielmehr die Vermutung einer wachstumshemmenden Beeinflussung der Paratyphusbacillen infolge einer Umstimmung des Blutes als Nährboden und vielleicht auch einer biologischen Schädigung dieser Bacillen bezüglich ihres Entwicklungsvermögens auf künstlichem Nährsubstrat. Unter diesem Gesichtspunkt gipfelt der in Frage stehende Einfluß der Typhusschutzimpfung auf die Lebensfähigkeit der Paratyphusbacillen lediglich in einer Herabsetzung der bakteriellen Wachstumsgeschwindigkeit und kann demzufolge nicht etwa wie bei Typhus in einer deutlichen Abschwächung der Bakterienvirulenz und einer damit verbundenen Milderung des klinischen Krankheitsbildes zur Geltung kommen, sondern derselbe äußert sich in einer an der erforderlichen Gallenanreicherungszeit meßbaren, zeitlichen Verzögerung des Bacillennachweises, welche durch die erworbenen Züchtungsschwierigkeiten verursacht wird. Wofern diese Nachweisverzögerung auf Grund einer infolge Herabminderung der Entwicklungsenergie herbeigeführten biologischen Schädigung des Bazillenwachstums durch die heterologen Typhusantikörper des Immunserums angenommen wird, kann die Beeinflussungsmöglichkeit der einzelnen Spielarten nicht verallgemeinert, sie darf vielmehr nur bei den Bakterientypen vermutet werden, die an und für sich weitgehende immunisatorische Beziehungen zu *Bact. typhi* aufweisen. Als solche Spielarten gelten z. B. die partialagglutinablen Paratyphusstämmen. Denn wenn die Agglutinationsreaktion auch keine „Schutzstofftitrierungsmethode“ im Sinne des Pfeifferschen Versuches darstellt, so bietet dieselbe doch Anhaltspunkte für das Vorhandensein eines im Blute kreisenden Virus und ermöglicht bei serologisch nahestehenden Bakterienarten wie den Typhus- und partialagglutinablen Paratyphusbacillen einen Rückschluß auf den Bau des bakteriellen Rezeptorenapparates und die Entwicklung des Antigencharakters. Gilt für die Paratyphusstämmen dieser Art vom Standpunkt der Ehrlichschen Seitenkettentheorie die Annahme, daß bei der

Ueberschwemmung des Blutes zunächst — nach dem Castellianischen Prinzip (26) — eine Bindung der bei der Impfung erzeugten Typhusagglutinine mit den auf sie abgestimmten Partialrezeptoren der sich ausbreitenden Bakterien und als dann — im Sinne der „anamnestischen Serumreaktion“ [Conradi-Bieling (27)] — neben der Erzeugung von Paratyphusagglutininen eine Neubildung von Typhusagglutininen stattfindet, so könnte auch in analoger Weise an eine Beeinflussung der bakteriziden Kräfte des Serums gedacht werden, wofern die Entstehung derselben auf einen dem des Paratyphusbacillus ähnlichen Antigencharakter der Typhusvaccine zurückzuführen ist.

Viel näher indessen als die gegen den spezifischen Charakter der Immunitätsreaktionen gerichtete Vermutung einer direkten Schädigung der bakteriellen Entwicklungsfähigkeit durch den „statischen“ Gehalt des Serums an Typhusimmunkörpern liegt der Gedanke an eine indirekte Beeinflussungsmöglichkeit des Bacillenwachstums auf Grund einer mit dem Immunisierungsprozeß erzielten biologischen Umstimmung des hämopoëtischen Systems zu beschleunigter und gesteigerter Antikörperbildung. Der Hemmungsfaktor für die Verzögerung des Paratyphusbacillennachweises wäre somit die spezifischbakteriolytische Wirkung des Patientenserums für Paratyphus, hingegen der auslösende Reiz dieses Prozesses das mit der vorhergegangenen Typhusimmunisierung entstandene „dynamische“ Moment eines Zustandes von erhöhter Reaktionsfähigkeit. Wenn auch mit Rücksicht auf die individuellen Empfindlichkeitsunterschiede und die biologische Variabilität der Infektionserreger eine derartige unter dem indirekten Einfluß der immunisatorischen Umstimmung des Blutes hervorgerufene Hemmung der Paratyphusbacillenentwicklung nicht verallgemeinert werden kann, so weist doch auf die Möglichkeit des ihr zugrunde liegenden Zusammenspiels von Paratyphusantikörperproduktion und dynamischer Funktion des gegen Typhus immunisierten Organismus sowohl der Neubildungsprozeß von Typhusimmunkörpern durch heterologe Vaccine [Lubowsky und Steinberg (28), Conradi und Bieling (29), Weil und Felix (30), Fleckseder (31), Dieudonné (32), Kirstein (33), Herxheimer (34),

Hünemann (35), Brauer (35), Rostowski (35)] als auch die natürliche Abhängigkeit dieser Reaktion von dem biologisch-chemischen Bau des Antigens. Bezüglich dieser letzteren Tatsache darf nämlich angenommen werden, daß ein gegen Typhus bzw. Paratyphus immunisierter Organismus, in welchem bei einer Reinfektion mit Paratyphus eine Neubildung von Typhus- bzw. Paratyphusantikörpern stattfindet, auch mit beschleunigter und gesteigerter Antikörperproduktion gegen das reinfizierende Antigen reagiert, ganz besonders gilt dies, wenn der Rezeptorenapparat des letzteren auf die präexistierenden Immunkörper abgestimmt ist. Die Möglichkeit der hierzu vorausgesetzten Variabilität des bakteriellen Antigencharakters und die damit geschaffene Grundlage einer Immunitäts-erweiterung im „dynamischen“ Sinne beweisen die von Sobernheim und Seligmann (36) bei Gärtner- und Paratyphusbacillen, von Bernhardt (37) bei Typhus- und von Roux (38), Führt (39), Landau (40), Conradi und Bieling (41) bei Gas- und Rauschbrandbacillen erhobenen Befunde einer biologischen Abwandlungsfähigkeit des bakteriellen Rezeptorenapparates. Auch die neueren Untersuchungen über die biologischen und serologischen Kultureigentümlichkeiten der atypischen [Oette (42), Ohmo (43), Wagner (44)], partialagglutinablen [Schultz (45), Lebram (46), Zupnick (47), Bruns und Kayser (48)] und hypagglutinablen [Müller (49), Stern (50), Friedberger und Moreschi (51)] Typhus- und Paratyphusformen sowie der paragglutinablen [Kuhn (52), Baerhtlein (53), Flatzek (54), Sachs und Mücke (55), Ditthorn und Neumark (56), Kuhn und Woihe (57), Kuhn und Ebeling (58), Kuhn, Gilde-meister und Woihe (59)], serum- und bakterizidiefesten [Besserer und Jaffé (60), Schlemmer (61), Trommsdorff (62), Cohn (63), Tsuda (64)] Bakterien liefern weitere Beweisstücke zu der Variabilität des bakteriellen Antigencharakters und damit — im Hinblick auf die allerdings nicht konstante Identität [Friedberger (65), Friedberger und Moreschi (66), Besserer und Jaffé (67), Haendel (68), Sobernheim und Seligmann (69)] der Antikörperbildungs- und -bindungsfaktoren — zur „Polyvalenz“ der durch ein „polyvalentes“ Antigen gebildeten Antikörper.

Den ersten Anlaß zur Stellung dieser Frage über die Beeinflussungsmöglichkeit des Paratyphusbacillennachweises durch die Typhusimmunisierung sowie die tatsächliche Grundlage der zu ihrer Beantwortung entwickelten Ansicht bilden die kulturellen und serologischen Blutuntersuchungen während eines gehäuftten Auftretens von Paratyphuserkrankungen, deren Aetiologie durch den Nachweis der charakteristischen Paratyphus A-Bacillen [Brion-Kayser (70)] sichergestellt werden konnte.

Hierzu wurde folgende Versuchsanordnung gewählt. Das durch Venenpunktion meist bei 39 bis 40° Körpertemperatur entnommenen Blut (2,5 ccm) wurde in 5,0 ccm steriler Rindergalle gegeben, gut geschüttelt und nach 24-, 48- und 72-stündiger Anreicherungszeit bei Brutschranktemperatur also dreimal in 24-stündigen Zwischenräumen auf Endoplaten ausgestrichen und diese 24 Stunden bei 37° bebrütet; außerdem wurden 5,0 ccm der 72 Stunden angereicherten Blutgalle mit 10,0 ccm verflüssigtem und auf 40° abgekühltem 3-proz. Nähragar zu einer „Blutgallenagarplatte“ (71) verarbeitet. Die gewonnenen Paratyphusreinkulturen wurden nach der mikroskopischen Untersuchung der Bacillen auf Gestalt, Beweglichkeit und Agglutinationsvermögen im Typhus- und Paratyphusimmunserum ($1/_{100}$) bezüglich ihres Wachstums auf den üblichen Nährböden (Milch, Kartoffel, Gelatine, Agar, Bouillon, Lackmusmolke, Lackmusedextrose, -lävulose, -laktose, -maltose, -saccharose, -mannit und Neutralrotagar sowie Barsiekowlösungen) und in bezug auf ihr agglutinatorisches Verhalten im Typhus- und Paratyphusimmunserum ($1/_{100}$) bis ($1/_{35000}$) untersucht. Gleichzeitig, sowie bei den meisten Fällen nach Entfieberung wurde mit einer Probe geronnenen Blutes (5,0 ccm) die Gruber-Widalsche Serumreaktion angestellt, und zwar in den Verdünnungen von $1/_{50}$ bis $1/_{8000}$ mit einer nach Ficker (72) abgetöteten polyvalenten Typhus- und Paratyphus- (A und B) Kultur.

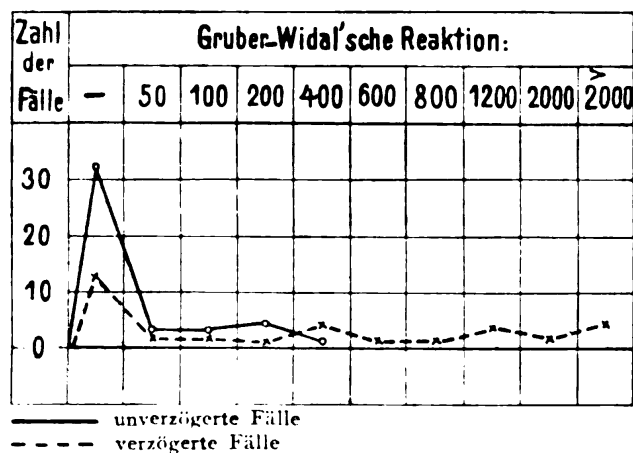
Die Zahl der auf dem Wege der kulturellen Blutuntersuchung ermittelten Paratyphen beträgt, einschließlich der als Vor- bzw. Ausläufer der Gruppenerkrankung zu bezeichnenden Fälle, insgesamt 75.

Um eine etwa vorhandene Beziehung zwischen Bacillennachweis und gleichzeitigem Gehalt des Serums an spezifischem Agglutinin festzustellen, sind die bakteriologischen Befunde in bezug auf die zum Bacillennachweis erforderliche Gallenanreicherungszeit sowie den Gehalt des Serums an Paratyphus A-Agglutinin zur Zeit der Bacillenzüchtung in Tabelle I zusammengestellt.

Tabelle I.

	Gruber-Widalsche Reaktion:										Summe	in Proz.
	—	50	100	200	400	600	800	1200	2000	12000		
Anreicherungszeit in Std.	24	32	3	3	4	1	—	—	—	—	43	57,3
	48	9	1	1	1	3	—	—	—	—	15	20,0
	72	2	1	1	—	1	1	—	—	—	6	8,0
Summe		43	5	5	5	5	1	—	—	—	64	85,3
Blutplatte		2	—	—	—	—	—	1	3	1	4	14,7
Summe		45	5	5	5	5	1	1	3	1	4	75 100,0

Diese Zusammenstellung läßt die zeitliche Verzögerung des Bacillennachweises deutlich erkennen. Derselbe gelang mittels Oesenverfahrens in 85,3 Proz. der Fälle und konnte durch Anwendung der Plattenmethode um 14,7 Proz. erhöht werden. Während im ersten Plattenausstrich 57,3 Proz. nachgewiesen wurden, lieferte der zweite Ausstrich noch in 20,0 Proz. und der dritte in 8,0 Proz. der Fälle ein positives Ergebnis, sodaß insgesamt 42,7 Proz. der Paratyphen mit Nachweisverzögerung gezüchtet wurden. Bei diesen Fällen ist in 43,8 Proz.



Kurve 1.

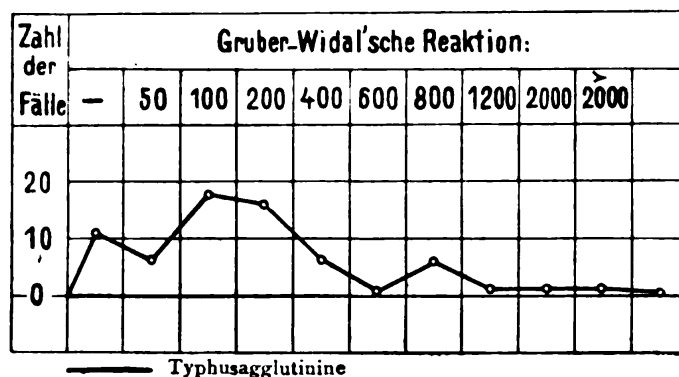
den übrigen 56,2 proz. Fällen mit Nachweisverzögerung ist der Paratyphus A-Widal kleiner oder gleich $\frac{1}{200}$, in 72,2 Proz. dieser Fälle sogar völlig negativ.

Die vorstehende graphische Darstellung (Kurve 1) dieser Zahlenbeziehungen zeigt das Verhältnis zwischen Bacillennachweis und Agglutiningehalt des Serums noch deutlicher.

der gleichzeitige Paratyphus A-Agglutiningehalt des Serums über $\frac{1}{200}$; es handelt sich um Paratyphen, bei denen die Blutentnahme nicht beim ersten Temperaturanstieg, sondern erst gegen Ende der ersten Woche vorgenommen wurde. Bei

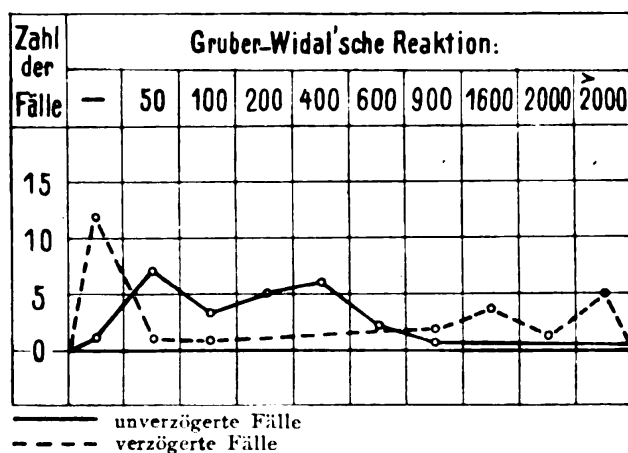
Während die Kurve für die im ersten Plattenausstrich nachgewiesenen Paratyphen bei negativem Widal den Höhepunkt erreicht, um mit steigendem Agglutiningehalt des Serums wieder abzufallen, beschreibt die Linie der mit Verzögerung gezüchteten Paratyphen ebenfalls eine steile, aber kurze Zacke bei negativem Paratyphus-Widal und außerdem mehrere, etwas niedrigere Erhebungen bei den höheren Agglutininwerten. Eine Verzögerung des Paratyphusbacillennachweises findet sich somit sowohl bei gänzlich negativem oder niedrigem als auch bei hohem Paratyphus-Widal, wohingegen der erste Plattenausstrich nur bei negativem oder verhältnismäßig niedrigem Widal ein positives Ergebnis liefert. Es liegt nahe, zur Erklärung dieser Gegenseitigkeitsverhältnisse zwischen Bacillennachweis und Agglutiningehalt des Serums die allgemein anerkannte Tatsache heranzuziehen, daß die Agglutininbildung eine Nebenerscheinung des Immunisierungsprozesses darstellt. Der bei negativem Paratyphus-Widal erbrachte Bacillennachweis sowie die Verzögerung desselben mit steigenden Agglutininwerten erklären sich demzufolge aus dem Parallelismus zwischen Agglutinin- und Immunkörperbildung. Indessen stellt die auch bei negativem oder geringem Agglutiningehalt der Serums beobachtete Verzögerung des Bacillennachweises die Eindeutigkeit dieses Erklärungsversuches in Zweifel und berechtigt zu der Vermutung, daß die unter diesen Bedingungen beobachtete Nachweisverzögerung eine Folgeerscheinung der bakteriolytischen Wirkung eines agglutininarmen Serums darstellt. Da die Annahme eines häufigen, jedoch nicht regelmäßigen Parallelismus zwischen den bakteriolytischen und agglutinablen Funktionen eines Immunserums experimentell gestützt wird [Bernhardt (73), Neufeld und Lindemann (74), Braun und Feiler (75), Feiler (76)], könnte dieselbe einwandfrei zur Erklärung der beobachteten Nachweisverzögerungen herangezogen werden, wofern nicht durch das gleichzeitige Verhalten des Typhus-Widals eine Beeinflussungsmöglichkeit des Paratyphusbacillennachweises durch die Typhusimpfung in Frage käme. Bei 61,1 Proz. der bei negativem oder niedrigem Paratyphuswidal beobachteten Nach-

weisverzögerungen ist nämlich auch der Typhus-Widal trotz nur wenige Monate, vereinzelt sogar nur einige Wochen vorhergegangener Typhusschutzimpfung ebenfalls völlig negativ. Deutlich zeigt dies die in Kurve 2 eingetragene Linie der zur Zeit der Bacillenzüchtung gemessenen Typhusagglutinine.



Kurve 2.

Diese Kurve erreicht den Höhepunkt bei der Serumverdünnung von $1/100$ bis $1/200$, dem durchschnittlichen Agglutinin-gehalt der Fälle, bei welchen die Paratyphusbacillen im ersten Gallenausstrich gefunden worden; außerdem beschreibt die Kurve noch zwei Erhebungen, und zwar eine bei negativem Widal, die andere bei der Serumverdünnung von $1/800$. Während



Kurve 3.

die letzte Zacke den Fällen mit gleichzeitig negativem oder niedrigem Paratyphus-Widal. Die graphische Dar-

die letztere Zacke den Fällen mit hohem Paratyphus-widal entspricht und teils auf die Neubildung von Typhusagglutininen infolge der Paratyphusinfektion, teils auf Partialagglutination infolge der Bildung von Paratyphusagglutininen zurückzuführen ist, gilt

stellung bietet somit das gleiche Bild wie die in Kurve 3 wiedergegebenen Beobachtungen über die zeitliche Verzögerung des Typhusbacillennachweises.

Diese Kurve zeigt in analoger Weise eine Verzögerung der Bacillenzüchtung sowohl bei hohem als auch bei gänzlich negativem Widal; derselbe gelang ohne Hemmung in 48 Proz., mit Verzögerung bei hohem Widal in 24 Proz. und entsprechend bei negativem Widal in 28 Proz. der Fälle.

Wenn aber auch die Hemmung des Paratyphus A-Bacillennachweises bei den im ersten Temperaturanstieg entnommenen Blutproben ausschließlich bei Fällen mit kurz vorhergegangener Typhusschutzimpfung und bei über 60 Proz. der mit negativem Paratyphus-Widal im Nachweis verzögerten Fälle die bei dreimal Schutzgeimpften immerhin seltene Erscheinung eines völlig negativen Typhus-Widals beobachtet wurde, so konnte die Nachweisverzögerung möglicherweise doch auch auf noch unbekannte Hemmungsfaktoren in der zur Anreicherung benutzten Rinder-galle, dem zur Aussaat verwendeten Endoboden und vielleicht auch in der Arteigenheit des Bakterientyps begründet sein. Während die gegen die Nährbodenbeschaffenheit erhobenen Bedenken insofern entkräftet werden, als die zum Züchtverfahren benutzten Nährböden für die mit bzw. ohne Verzögerung nachgewiesenen Paratyphen gleich waren, ergab auch die Messung der Wachstumsgeschwindigkeit der mit bzw. ohne Hemmung gezüchteten Stämme keinerlei Anhaltspunkte für das Vorhandensein eines natürlichen Verzögerungsmomentes, sondern wies mit voller Deutlichkeit auf eine Beeinflussung des Paratyphusbacillennachweises durch die mit der Typhusschutzimpfung erzielte Umstimmung des Blutes.

Um über die vorliegende Frage ein sicheres Urteil zu gewinnen, war es nötig, die diesbezüglichen Beobachtungen auf ein umfangreiches Untersuchungsmaterial und möglicherweise auch auf den biologisch dem Typhusbacillus weniger nahestehenden Paratyphus B auszudehnen. Diese Möglichkeit bot ein gehäuftes Auftreten von Paratyphus B-Erkrankungen, während deren Verlaufes bei über 150 Fällen — unter Innehaltung der beschriebenen Versuchstechnik — ein positiver

Blutbefund erhoben werden konnte. Bei sämtlichen Fällen handelte es sich um wiederholt, verschiedentlich sogar um kurz vor Erkrankung zum vierten Mal typhusschutzgeimpfte Kranke, die nachweislich keine paratyphöse Erkrankung überstanden hatten.

Die kulturellen und serologischen Befunde sind in der folgenden Uebersicht (Tabelle II) mit Bezug auf die zum Nachweis erforderliche Gallenanreicherungszeit zusammengestellt.

Tabelle II.

		Gruber-Widalsche Reaktion:											Summe	in Proz.
		—	50	100	200	400	600	800	1200	1600	2000	12000		
Anreiche- rungszeit in Std.	24	33	2	2	22	6	3	1	—	—	—	—	69	46,0
	48	23	2	—	8	5	3	2	3	1	7	1	55	36,7
	72	4	—	—	—	—	—	1	2	2	3	6	18	12,0
Summe		60	4	2	30	11	6	4	5	3	10	7	142	94,7
Blutplatte		1	1	1	1	—	—	—	—	—	—	4	8	5,3
Summe		61	5	3	31	11	6	4	5	3	10	11	150	100,0

Diese Zusammenstellung läßt die zeitliche Verzögerung des Paratyphusbacillennachweises deutlich erkennen. Mittels Oesenverfahrens gelang die Bacillenzüchtung in 94,7 Proz. der Fälle, und zwar hiervon 46,0 Proz. im ersten Ausstrich, 36,7 Proz. im zweiten und 12,0 Proz. im dritten Ausstrich. Die Plattenmethode lieferte in 5,3 Proz. ein positives Ergebnis, so daß insgesamt 54 Proz. der Paratyphen mit Nachweisverzögerung gezüchtet wurden.

Zur Klarlegung der Verzögerungsursache sind die einzelnen Fälle unter verschiedenen Gesichtspunkten miteinander verglichen worden.

1) Zur Ermittlung eines Abhängigkeitsverhältnisses zwischen Bacillennachweis und dem Gehalt des Serums an spezifischem Agglutinin sind die kulturellen und serologischen Befunde in Kurve 4 zusammengestellt.

In dieser Darstellung erreicht die Linie der unverzögert nachgewiesenen Paratyphen bei negativem Widal den Höhepunkt, um nach einer zweiten Erhebung bei der Serumverdünnung von $\frac{1}{200}$ steil abzufallen. Dieser Befund entspricht der allgemein anerkannten Tatsache, daß der Erreger-

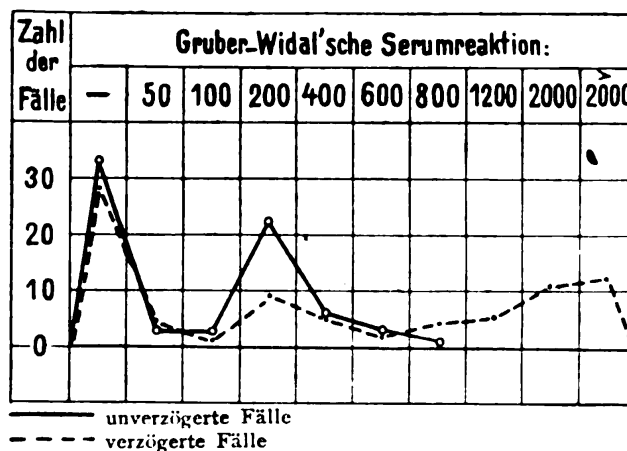
nachweis mit steigendem Agglutiningehalt des Serums verzögert wird. In Uebereinstimmung hiermit beschreibt die Linie der unter Verzögerung ermittelten Fälle eine Steigerung bei den hohen Agglutininwerten; im Gegensatz hierzu aber auch eine bedeutende Erhebung bei negativem Paratyphus-Widal.

2) Um eine etwa vorhandene Beziehung zwischen Nachweisverzögerung und Typhus-Widal zu ermitteln,

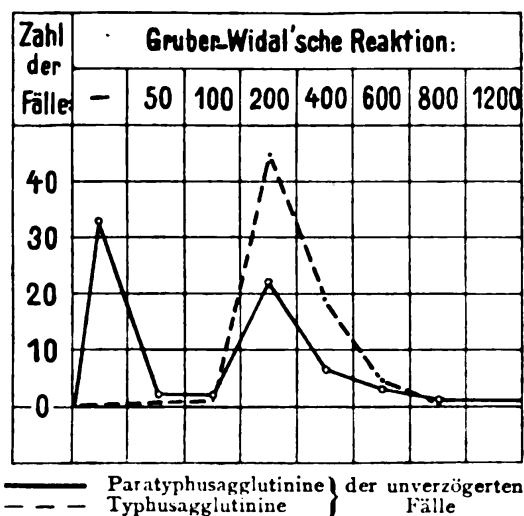
sind die zur Zeit der Bacillenzüchtung gemessenen Typhus- und Paratyphusagglutinine der mit bzw. ohne Hemmung gezüchteten Paratyphen in den Kurven 5 und 6 wiedergegeben.

Für die unverzögert nachgewiesenen Paratyphen besteht die Linie der Typhusagglutinine wesentlich aus einer steilen Zacke bei der Serumverdünnung von $\frac{1}{200}$, dem durchschnittlichen Agglutiningehalt anderweitiger, nicht bestätigter Verdachtsfälle mit gleichlange vorhergegangener Typhusschutzimpfung.

Bei den verzögerten Fällen beschreibt die Linie der Typhusagglutinine hauptsächlich zwei Zacken, und zwar eine solche bei negativem und eine weitere größere bei den hohen Agglu-

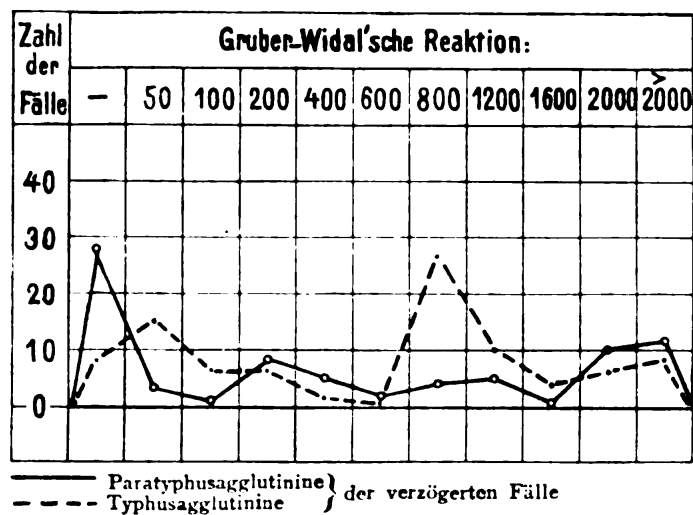


Kurve 4.



Kurve 5.

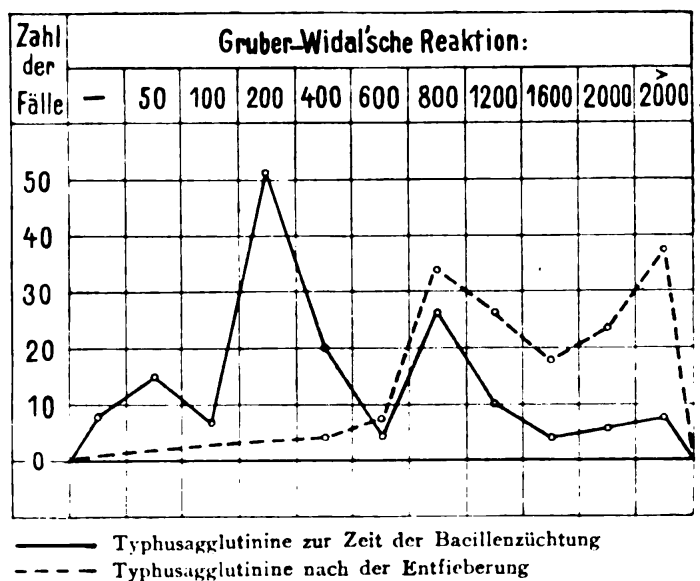
tininwerten. Während die erste Steigerung den Fällen mit gleichzeitig negativem Paratyphus-Widal entspricht, gilt die zweite Erhebung den bei hohem Paratyphus-Widal verzögert nachgewiesenen Paratyphen. Mit der Verzögerung des



Kurve 6.

Paratyphusbacillennachweises verbindet sich somit teils eine Herabminderung teils eine Steigerung der Typhusagglutinine.

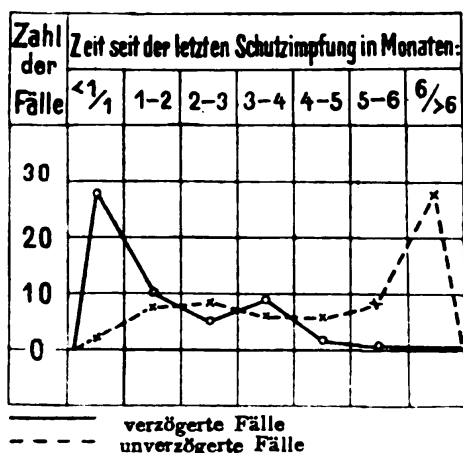
3) Um ein etwa bestehendes Verhältnis zwischen der Steigerung der Typhusagglutinine und der Para-



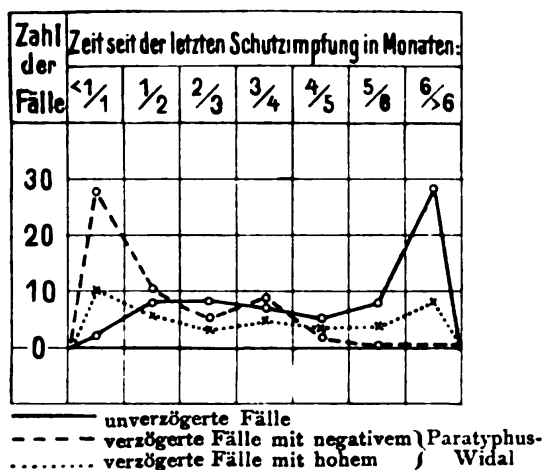
Kurve 7.

typhusinfektion klarzulegen, sind sowohl die zur Zeit der Bacillenzüchtung als auch die nach Entfieberung der Fälle gemessenen Typhusagglutinine in der Kurve 7 graphisch dargestellt worden.

Während die Linie der zur Zeit der Bacillenzüchtung gemessenen Typhusagglutinine je eine Erhebung bei niedrigem durchschnittlichem und hohem Widal beschreibt, besteht die Linie der nach Entfieberung der Fälle bestimmten Agglutinine wesentlich aus einer einzigen Erhebung bei hohem Widal. Mit der Paratyphusinfektion verbindet sich somit eine unspezifische Steigerung der Typhusagglutinine.



Kurve 8.



Kurve 9.

4) Um die Herabminderung der Typhusagglutinine etwa aus der Zeit der letzten Typhusschutzimpfung erklären zu können, sind sowohl die mit negativem oder niedrigem Typhus-Widal verzögerten Fälle als auch vergleichsweise die unverzögerten Fälle in bezug auf das letzte Impfdatum in Kurve 8 zusammengestellt worden.

In dieser Kurve erreicht die Linie der Verzögerungsfälle den Höhepunkt bei der kurz vor Erkrankung liegenden Zeit, wohingegen die Linie der unverzögerten Fälle mit Zunahme dieser Zeit ansteigt. Durch die Paratyphusinfektion kann somit eine Herabminderung der Typhusagglutinine bedingt sein.

5) Um die Abhängigkeit der Nachweisverzögerung von der Typhusschutzimpfung zahlenmäßig festzustellen, sind in Kurve 9 die gesamten mit bzw. ohne Hemmung nachgewiesenen Fälle auf die Zeit der letzten Typhusschutzimpfung bezogen worden.

Für die mit negativem oder niedrigem Typhus- und Paratyphus-Widal verzögerten Fälle ergibt sich eine mit Zunahme der Zeit abfallende, für die unverzögerten Paratyphen eine mit dieser Zeit ansteigende Linie. Die Kurve der mit hohem Typhus- und Paratyphus-Widal verzögerten Fälle erstreckt sich auf die ganze Zeit, erreicht aber auch bei den kurz nach der Impfung beobachteten Paratyphen den Höhepunkt. Mit Abnahme der seit der letzten Impfung verstrichenen Zeit verbindet sich somit eine zahlenmäßige Steigerung der Verzögerungsfälle.

Der Vergleich dieser für Paratyphus B gewonnenen Untersuchungsergebnisse mit den bei Paratyphus A gemachten Feststellungen entkräftet — im Hinblick auf die stattliche Zahl der beobachteten Verzögerungsfälle — jeden Einwand gegen die Annahme eines durch die Typhusimmunisierung bedingten Hemmungsmomentes der Paratyphusbacillenentwicklung und beantwortet im Rückblick auf die Einzelergebnisse die eingangs erörterte Frage im folgenden Sinne.

a) Die Entwicklungsfähigkeit der Paratyphusbacillen kann durch die mit der Typhusschutzimpfung erzielte Umstimmung des Blutes derart geschwächt werden, daß zu ihrer Nachweisbarkeit eine mehrmalige Verarbeitung der angereicherten Blutgalle erforderlich ist.

b) Diese Herabsetzung des bakteriellen Wachstumsvermögens kommt zahlenmäßig um so mehr zur Geltung, je kürzer die Zeit zwischen Erkrankung und der dieser letzteren vorhergegangenen Typhusschutzimpfung ist.

c) Mit der Herabsetzung der Paratyphusbacillenentwicklung kann eine Verminderung der

Typhusagglutinine verbunden sein; dieselben können im weiteren Krankheitsverlauf entsprechend der Bildung von Paratyphusagglutininen neugebildet werden.

Zusammenfassung.

1) Es wurden 225 Paratyphusstämmen und zwar 75 Paratyphus A- und 150 Paratyphus B-Stämme aus Blut gezüchtet; eine Hemmung des Bacillenwachstums fand sich bei Paratyphus A in 42,7 Proz., bei Paratyphus B in 54,0 Proz. der Fälle.

2) Die Verzögerung der Nachweisbarkeit fand sich für Paratyphus A in 56,2 Proz. bei niedrigem, in 43,8 Proz. bei hohem Widal; für Paratyphus B konnte dieselbe in 51,9 Proz. bei niedrigem, in 48,1 Proz. bei hohem Widal beobachtet werden.

3) Bei den mit niedrigem Agglutiningehalt des Serums verzögerten Paratyphus B-Fällen lag die Zeit der letzten Typhusschutzimpfung in 66,7 Proz. bis zu einem Monat, in 23,8 Proz. bis zu 2 Monaten und in keinem der Fälle um mehr als 6 Monate vor Erkrankung.

4) Bei den mit niedrigem Paratyphus-Widal unter Verzögerung nachgewiesenen Paratyphen war auch der Typhus-Widal in 83,3 Proz. gleich oder kleiner als $\frac{1}{200}$, um bei sämtlichen Fällen im weiteren Krankheitsverlauf beträchtlich anzusteigen.

5) Gleichfalls fand sich eine Verzögerung des Paratyphusbacillennachweises bei hohem Paratyphus-Widal; bei sämtlichen dieser Fälle konnte im Verlauf der Paratyphusinfektion eine Neubildung der Typhusagglutinine beobachtet werden.

Literatur.

- 1) Hohlweg, Münch. med. Wochenschr., 1915, No. 16.
- 2) Rhein, Münch. med. Wochenschr., 1915, No. 22.
- 3) Goldscheider und Kroner, Berl. klin. Wochenschr., 1915, No. 36 bis 38.
- 4) Scriba, Münch. med. Wochenschr., 1915, No. 22.
- 5) Grundmann, Berl. klin. Wochenschr., 1915, No. 42.

- 6) Hecker und Hirsch, Med. Klinik, 1915, No. 38.
- 7) Zinsser und Kathe, Med. Klinik, 1916, No. 22.
- 8) Schwarz, Münch. med. Wochenschr., 1916, No. 20.
- 9) Jacob, Münch. med. Wochenschr., 1916, No. 17.
- 10) Fejes, Deutsche med. Wochenschr., 1916, No. 14.
- 11) Walko, Münch. med. Wochenschr., 1916, No. 41.
- 12) Schott, Münch. med. Wochenschr., 1916, No. 44.
- 13) Koritschoner, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 79, 1917.
- 14) Materna, Berl. klin. Wochenschr., 1917, No. 24.
- 15) Kaup, Münch. med. Wochenschr., 1916, No. 36—37.
- 16) Fürst, Münch. med. Wochenschr., 1916, No. 35.
- 17) Seeligmann, Münch. med. Wochenschr., 1915, No. 29.
- 18) Reckzeh, Deutsche med. Wochenschr., 1916, No. 3.
- 19) Kirstein, Deutsche med. Wochenschr., 1917, No. 11.
- 20) Seiffert, Beitr. z. Klinik d. Infektionskrankh. u. Immunitätsf., Bd. 5, 1916.
- 21) Baumgärtel, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 81, 1918.
- 22) Kolle-Hetsch, Die exp. Bakt. u. Infektionskrankh. (1916).
- 23) Dieudonné, Immunität, Schutzimpfung und Serumtherapie (1913).
- 24) Marx, Die experimentelle Diagnostik, Serumtherapie und Prophylaxe der Infektionskrankheiten (1914).
- 25) Müller, Vorlesungen über Infektion und Immunität (1912).
- 26) Castellani, Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh., Bd. 40.
- 27) Conradi-Bieling, Deutsche med. Wochenschr., 1916, No. 42.
- 28) Lubowski und Steinberg, Deutsch. Arch. f. klin. Med., Bd. 79, 1904.
- 29) Conradi und Bieling, Deutsche med. Wochenschr., 1916, No. 42.
- 30) Weil und Felix, Wiener klin. Wochenschr., 1916, No. 31.
- 31) Fleckseder, Wiener klin. Wochenschr., 1916, No. 21.
- 32) Dieudonné, Med. Klinik, 1906, No. 22.
- 33) Kirstein, Deutsche med. Wochenschr., 1917, No. 11.
- 34) Herxheimer, Berl. klin. Wochenschr., 1916, No. 35.
- 35) Hünemann, Brauer, Rostoski, Verhandl. d. außerordentl. Tagung d. Deutsch. Congr. f. inn. Med. in Warschau, 1916.
- 36) Sobernheim und Seligmann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6 u. 7, 1910.
- 37) Bernhardt, Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh., Bd. 79.
- 38) Roux, Ann. de l'Inst. Pasteur, 1883, No. 2.
- 39) Fürth, Münch. med. Wochenschr., 1916, No. 32.
- 40) Landau, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 79.
- 41) Conradi und Bieling, Münch. med. Wochenschr., 1916, No. 44 u. 45.
- 42) Oette, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 68.
- 43) Ohno, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 75.
- 44) Wagner, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 71.
- 45) Schultz, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Bd. 44.
- 46) Lebram, Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh., Bd. 64.

- 47) Zupnick, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 49.
- 48) Bruns und Kayser, Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh., Bd. 43.
- 49) Müller, Münch. med. Wochenschr., 1903, No. 2.
- 50) Stern, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Bd. 33.
- 51) Friedberger und Moreschi, Berl. klin. Wochenschr., 1905, No. 45.
- 52) Kuhn, Med. Klinik, 1916, No. 30; Arch. f. Hygiene, Bd. 86, 1917.
- 53) Baerthlein, Münch. med. Wochenschr., 1916, No. 49.
- 54) Flatzek, Deutsche med. Wochenschr., 1917, No. 7.
- 55) Sachs und Mücke, Med. Klinik, 1917, No. 6.
- 56) Ditthorn und Neumark, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 67. 1913.
- 57) Kuhn und Woithe, Med. Klinik, 1909, No. 45.
- 58) Kuhn und Ebeling, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 25, 1916.
- 59) Kuhn, Gildemeister und Woithe, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundh.-Amt, Bd. 31, 1911.
- 60) Besserer und Jaffé, Deutsche med. Wochenschr., 1905, No. 51.
- 61) Schlemmer, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therapie, 1911, No. 9.
- 62) Trommsdorff, Arch. f. Hygiene, 1901, No. 39.
- 63) Cohn, Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh., Bd. 45.
- 64) Bail und Tsuda, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 48.
- 65) Friedberger, Festschrift Salkowski.
- 66) Friedberger und Moreschi, Deutsche med. Wochenschr., 1905, No. 51.
- 67) Besserer und Jaffé, Berl. klin. Wochenschr., 1905, No. 45.
- 68) Haendel, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundh.-Amt, Bd. 30, 1909.
- 69) Sobernheim und Seligmann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6 u. 7, 1910.
- 70) Brion-Kayser, Münch. med. Wochenschr., 1903, No. 40 u. 41.
- 71) Baumgärtel, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 81, 1918.
- 72) Ficker, Berl. klin. Wochenschr., 1903, No. 45.
- 73) Bernhardt, Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh., Bd. 79.
- 74) Neufeld und Lindemann, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Bd. 54, 1912.
- 75) Braun und Feiler, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21, 1914.
- 76) Feiler, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 24, 1915. (G. C.)

Nachdruck verboten.

Die Lipoidbindungsreaktion.

Von Stabsarzt Dr. **E. Meinicke.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 6. Februar 1918.)

Die von mir ausgearbeitete Lipoidbindungsreaktion ist eine Immunitätsreaktion von allgemeiner Gültigkeit, die in naher Verwandtschaft zu der Komplementbindungsmethode steht. Beim positiven Komplementbindungsversuch vereinigen sich im Serum enthaltene Antikörper mit ihrem spezifischen Antigen und binden dadurch Komplement. Die Bindung des Komplements wird an dem Indikator des hämolytischen Systems nachgewiesen. Genau in der gleichen Weise, wie man im Komplementbindungsversuch an die Verbindung: Antigen-Antikörper Komplement fesselt, binde ich in meiner Lipoidbindungsreaktion Organlipide an diese Verbindung spezifisch aufeinander eingestellter Stoffe. Als Indikator für die erfolgte Bindung dient in diesem Falle eine chemische Reaktion. Es hat sich die experimentelle Tatsache ergeben, daß Organlipide in geflocktem Zustand durch Kochsalzzusatz nicht wieder in Lösung gebracht werden können. Dagegen werden die Flocken beliebiger Sera durch Kochsalzzusatz glatt wieder in Lösung gebracht. Die Flocken der Serumglobuline, der Träger der Antikörperreaktionen, sind also kochsalzlöslich, die der Extraktstoffe kochsalzbeständig. Bringt man Lipoidextrakt, Antigen und die darauf eingestellten Antikörper im Reagenzglas zusammen, so verbinden sich Antigen und Antikörper und fesseln die lipoiden Stoffe an sich. Fällt man die Verbindung dieser drei Substanzen aus, so bestehen die so erhaltenen Flocken, abgesehen vom Antigen, aus einer kochsalzlöslichen Serumkomponente und einer kochsalzbeständigen Lipoidkomponente¹⁾.

1) Zusatz bei der Korrektur: Das ist das ursprüngliche Bild, das ich mir vom Wesen meiner Reaktion machte. Neuere Versuche haben folgendes ergeben: Färbt man alkoholische Organextrakte mit Fettfarben oder fettlöslichen Farben an und flockt die gefärbten Extrakte mit Kochsalzlösung aus, so gehen einige Farben, z. B. Scharlachrot und Sudan 4 restlos in den Niederschlag; die obenstehende Flüssigkeit wird völlig ent-

Diese Flocken sind quantitativ kochsalzbeständiger als reine Serumflocken. Die relativ erhöhte Kochsalzbeständigkeit der Flocken dient als Indikator für die vollzogene Bindung von Antigen, Antikörper und Lipoid und ist daher ein Reagens auf Antikörper bzw. Antigene.

Wie die Technik der Komplementbindungsmethode stets dieselben Grundzüge aufweist, ob man sie zur Eiweißdifferenzierung oder zum Nachweis bakterieller Antikörper verwendet, so bleibt auch die Technik meiner Lipoidbindungsreaktion im wesentlichen auf allen ihren Anwendungsgebieten dieselbe. Zu 0,2 ccm des kurze Zeit inaktivierten Kranken- bzw. Immunserrums wird durchschnittlich 1 ccm einer Mischung von Antigen und Lipoidextrakt gegeben. Die so beschickten Röhrchen bleiben für etwa 20 Stunden im Brutschrank von 37°. Die Reagentien werden so gewählt, daß in dieser Zeit alle Sera ausgeflockt werden. Nachdem man den in den Röhrchen gebildeten Bodensatz durch leichtes Schütteln zu einer gleichmäßigen grobkörnigen Suspension verteilt hat, gibt man 1 ccm Kochsalzlösung von bestimmtem Prozentgehalt zu und liest nach einstündigem Aufenthalt der Röhrchen im Brutschrank die Reaktion wie eine Agglutination ab. In den negativen Röhrchen haben sich die Flocken gelöst; in den positiven sind sie bestehen geblieben. Das ist die im Wesen stets gleichbleibende Technik der Lipoidbindungsreaktion. Beim

färbt. Setzt man mit Extrakten, die mit Scharlachrot oder Sudan 4 leicht angefärbt sind, Lipoidbindungsversuche an, so wäre nach der Theorie zu erwarten, daß bei positivem Ausfall die gefärbten Lipide mit in den Globulinniederschlag gehen, dieser also gefärbt erscheint im Gegensatz zu dem ungefärbten Globulinniederschlag der normalen Sera. Diese Erwartung wird durch den Versuch nicht erfüllt. In den positiven und den negativen Serumproben erscheint der Niederschlag gleicherweise ungefärbt, während die obenstehende Flüssigkeit gefärbt ist. Es gehen also beim positiven Versuch zum mindesten keine irgendwie erheblichen Lipoidmengen in den Serumniederschlag über. Es ist auch möglich, daß die bei der „Lipoidbindungsmethode“ reagierenden Stoffe überhaupt nicht Lipide, sondern Eiweißabbauprodukte sind (cfr. Much und Embden, Münch. med. Wochenschr., 1914). Auch andere Deutungen der Vorgänge sind noch möglich. Die oben gegebene Deutung soll nur ein Bild geben vom Wesen der Reaktion, beansprucht aber nicht, eine restlose Erklärung der Vorgänge zu sein.

Nachweis luetischer Erkrankungen ist die Zugabe eines spezifischen Antigens bei der Lipoidbindungsreaktion ebensowenig erforderlich wie bei der Komplementbindungsmethode. Beide Reaktionen gehen also auch in dieser Beziehung parallel.

Ueber die spezielle Technik der Lipoidbindungsreaktion zum Nachweis der Lues ¹⁾ und des Rotzes ²⁾ habe ich an anderer Stelle ausführlich berichtet. In meinem Vortrag vom 7. Nov. 1917 ³⁾ erwähnte ich als weiteres Anwendungsgebiet meiner Methode die Eiweißdifferenzierung. Darüber möchte ich hier einige technische Einzelheiten nachtragen, zumal die Besprechung der Besonderheiten meiner Methode bei der Eiweißdifferenzierung eine erwünschte Gelegenheit gibt, einige technische Fragen von allgemeineren Gesichtspunkten aus zu besprechen und die Grenzen und Aussichten der Lipoidbindungsreaktion zu erörtern. Zur Eiweißdifferenzierung benutzte ich als Antigene $\frac{3}{4}$ Stunde bei 56° inaktivierte Menschen-, Pferde- bzw. Hammelsera. Mit diesen Antigenen wurden Kaninchen in der üblichen Weise durch intravenöse Injektionen vorbehandelt, bis sie ein brauchbares Antieiweißserum lieferten. Für den Versuch wurden ebenfalls $\frac{3}{4}$ Stunde inaktivierte Sera als Eiweißantigene benutzt. Die lange Inaktivierungsdauer wurde gewählt, um zu verhindern, daß die Antigene im Versuch selbst ausgeflockt wurden und dadurch die Beurteilung der Ausflockung der spezifischen Kaninchenserä störten. Den Lipoidextrakt gewann ich aus Kaninchenleber, indem ich nach dem üblichen Verfahren je 1 g frische Leber mit je 4 ccm 96-proz. Alkohol auszog. Für den Versuch wurde der Kaninchenleberextrakt in der in meiner Luesarbeit ⁴⁾ angegebenen Weise mit destilliertem Wasser 1:8 verdünnt. Die Kaninchenserä wurden vor dem Versuch $\frac{1}{4}$ Stunde bei 56° inaktiviert. Von den Eiweißantigenen stellte ich mir mit physiologischer Kochsalzlösung die Verdünnungen 1:10 und 1:100 her und von diesen Verdünnungen aus und mit unverdünntem Serum wurden dann weitere Verdünnungen mit dem gebrauchsfertigen, 1:8 verdünnten Lipoidextrakt her-

1) Berl. klin. Wochenschr., 1918, No. 4.

2) Zeitschr. f. Veterinärkunde, 1918, No. 3.

3) Berl. klin. Wochenschr., 1917, No. 50.

4) Berl. klin. Wochenschr., 1918, No. 4.

gestellt, indem auf 9,9 ccm Extrakt 0,1 ccm des unverdünnten bzw. verdünnten Eiweißes gegeben wurde. Es wurden so die Eiweißverdünnungen 1:100, 1:1000 und 1:10000 erzielt. In den Versuchsröhrchen wurden je 0,2 ccm der spezifischen Kaninchensera mit je 1 ccm dieser Lipoideiweißverdünnungen gemischt und der Versuch in der oben beschriebenen Weise weiterbehandelt. Tabelle I gibt Auskunft über die Versuchsergebnisse.

Aus ihr geht zunächst die grundlegende Tatsache hervor, daß sich mit dem Lipoidverfahren verschiedene Eiweißarten in spezifischer Weise voneinander trennen lassen. Es ist ferner bemerkenswert, daß die Reaktion ein Versuchsoptimum hat, das in unserem Falle in der Nähe der Eiweißverdünnung 1:1000 liegt. Bei dieser Verdünnung sind die Versuchsergebnisse am schärfsten, während sie nach oben und unten an Schärfe abnehmen. Es sei daran erinnert, daß die gleichen quantitativen Beziehungen auch bei der Komplementbindungsmethode obwalten. Aus der Tabelle ergeben sich neben der Grundtatsache der Spezifität der Lipoidbindungsreaktion noch folgende technische Beobachtungen:

1) In den negativen Röhrchen mit der Eiweißverdünnung 1:100 ist die Flockung meist schwächer als in den Röhrchen mit der Verdünnung 1:1000 und 1:10000. Es handelt sich hier um eine allgemeine Regel. Fügt man gebrauchsfertigen Lipoidextrakten fremde Stoffe zu, so beeinträchtigt das im allgemeinen die Fällungskraft der Extrakte. Entsprechende Beobachtungen habe ich außer der hier mitgeteilten mit den verschiedensten Bakterienextrakten, mit Tuberkulin, mit stark verdünnten Farben etc. gemacht. Zusatz steigender Mengen dieser Stoffe zum Lipoidextrakt hemmt seine Fällungskraft in steigendem Maße. Andererseits wird die Haltbarkeit der Serumflocken gegenüber Kochsalzlösung durch diese Zusätze in steigendem Maße erhöht. Es steht also der schlechteren Flockbarkeit eine größere Haltbarkeit der Flocken gegenüber. Diese unspezifische Haltbarkeit infolge größerer Antigenbeigaben ist unerwünscht, da unter diesen Umständen mit hochprozentigen Kochsalzlösungen gearbeitet werden muß und

Tabelle I.

Verdünt:	Menscheneiweiß			Hammeliweiß			Pferdeiweiß		
	1:100	1:1000	1:10000	1:100	1:1000	1:10000	1:100	1:1000	1:10000
Flockung 2-proz. NaCl	+++ ±	++++ —	++++ —	+++ ±	++++ —	++++ —	+++++ ¹¹ +++++	++++ ++++	++++ ++
No. 107. Antipferdeeiweißserum.									
Flockung 2-proz. NaCl	++ ++ ±	++ +	++ +	++ ++ ±	++ +	++ —	++++ ++++ ++++	++++ ++++ ++++	++++ ++++ +
No. 170. Antipferdeeiweißserum (hämolytisch.)									
Flockung 2-proz. NaCl	++ ++ ±	++ +	++ +	++ ++ ±	++ +	++ —	++++ ++++ ++++	++++ ++++ ++++	++++ ++++ +
No. 182. Antihammeliweißserum.									
Flockung 2-proz. NaCl	++ ±	+++ —	+++ —	+++++ ¹¹ +++++	+++++ +++++	+++++ ++	+++ ±	++++ ++++	++++ —
No. 132. Antimenscheneiweißserum.									
Flockung 2-proz. NaCl	+++++ ¹¹ +++++	+++++ +++++	+++++ —	+++++ ±	+++++ —	+++++ —	+++++ ±	+++++ —	+++++ —

Tabelle II.

Versuche, protokolliert nach Zusatz von 2-proz. Kochsalzlösung.

Verdünt:	Menscheneiweiß			Hammeliweiß			Pferdeiweiß		
	1:100	1:1000	1:10000	1:100	1:1000	1:10000	1:100	1:1000	1:10000
Kaninchenlipoid Menschelipoid Pferdelipoid	± ± ±	— +	— —	± — ±	— — —	— — —	++++ ++++ ++++	++++ ++++ ++++	++ ++ ++
No. 107. Antipferdeeiweißserum.									
Kaninchenlipoid Menschelipoid Pferdelipoid	± ± ±	— ±	— —	++++ ++++ ++++	++++ ++++ ++++	++++ ++++ ++	± ± ++	— — ++	— — +
No. 182. Antihammeliweißserum.									
Kaninchenlipoid Menschelipoid Pferdelipoid	++++ ++++ ++++	++++ ++++ ++++	++ ++ ++	± ± ±	— — —	— — —	± ± ++	— — ++	— — ±
No. 132. Antimenscheneiweißserum.									
Kaninchenlipoid Menschelipoid Pferdelipoid	++++ ++++ ++++	++++ ++++ ++++	++ ++ ++	± ± ±	— — —	— — —	± ± ++	— — ++	— — ±

die Ergebnisse dadurch an Schärfe einbüßen. Man muß also stets mit hochwertigen Seren oder mit hochwertigen Antigenen arbeiten, die schon in starker Verdünnung wirksam sind. Das Komplementbindungsverfahren kennt die gleichen Verhältnisse: größere Mengen beliebiger Antigene wirken dort bekanntlich eigenhemmend.

In den positiven Röhrchen mit der Antigenverdünnung 1:100 ist die Flockung wesentlich stärker und grobkörniger als in den negativen und auch stärker als in den positiven Röhrchen mit mehr verdünntem Antigen. Es ist das offenbar auf die Präzipitationswirkung der Antieiweißsera in dieser Konzentration zurückzuführen.

2) Die einzelnen Kaninchensera sind verschieden stark ausgeflockt. Gute gleichmäßige Flocken weisen die unveränderten Sera No. 107, 182 und 132 in den Röhrchen 1:1000 und 1:10000 auf; die Flocken des hämolytischen Serums No. 170 sind wesentlich kleiner. Das ist eine Beobachtung, die man bei allen Serumarten häufig machen kann: hämolytische Sera werden im allgemeinen schwerer ausgeflockt als nichthämolytische. Sind die Sera aber schon weiter zersetzt, so werden sie manchmal in ganz besonders grobkörniger Form ausgefällt; sie weichen also von der Flockungsart nichthämolytischer Sera ab. Die Art der Serumflockung ist für den Geübten ein sehr feines Reagens für beginnende Veränderungen der Sera. Auch Sera, denen äußerlich nicht die geringste Veränderung anzusehen ist, werden manchmal nicht oder nur schwer ausgeflockt, wenn sie längere Zeit auf dem Blutkuchen gestanden haben, aktiv aufbewahrt oder Frost ausgesetzt waren. Die Flocken hämolytischer Sera sind unabhängig von der Flockengröße im allgemeinen schwerer durch Kochsalz wieder zu lösen als die der nicht veränderten Sera. Das Serum 170 verlangt zur Lösung der Flocken 3-proz. Kochsalzlösung, während die übrigen schon durch 2-proz. gelöst werden. Die Versuche der Tabelle I sind an frisch entnommenen Kaninchenseren ausgeführt. Da sich bei längerem Aufbewahren die Fällbarkeit der Sera zu ändern pflegt, eignet sich die Lipoidbindungsmethode a priori weniger zum Nachweis bestimmter Antigene mit einem lange aufbewahrten Standardserum als

zum Nachweis von Antikörpern in frisch entnommenen, gleichmäßig behandelten Serumproben.

In Tabelle II sind Parallelversuche mit verschiedenartigen Lipoidextrakten wiedergegeben. Ein Vergleich zwischen Kaninchenleberextrakt und Menschenherzextrakt zeigt keine wesentlichen Verschiedenheiten. Immerhin erscheint die Kochsalzbeständigkeit der Menscheneiweiß enthaltenden Flocken, die mit Menschenlipoid ausgefällt sind, etwas größer als die der mit Kaninchenlipoid gefällten. Auffallende Unterschiede aber zeigen die Versuche mit Pferdellipoid einerseits und Kaninchenlipoid anderseits. Diese Versuche wurden mehrmals mit verschiedenen Lipoidextrakten wiederholt und gaben stets gleichmäßige Ergebnisse. Uebereinstimmend zeigte es sich, daß die Spezifität der Lipoidbindungsreaktion bei der Eiweißdifferenzierung leiden kann, wenn man heterologe, von anderen Tierarten stammende Organextrakte zur Fällung der ImmunsERA verwendet. Es wird dann nicht nur in den Röhrchen, die spezifisches Antigen und den dazu passenden Antikörper enthalten, eine erhöhte Kochsalzbeständigkeit der Flocken erzielt, sondern es zeigt sich auch in den Röhrchen, in denen artgleiches Antigen mit artgleichem Lipoid in Beziehung tritt, eine ebenso stark erhöhte Kochsalzbeständigkeit. Es treten hier also in Wechselwirkung: Lipoid mit artgleichem Eiweiß und einem Antieiweißserum, das gegen eine andere Eiweißart eingestellt ist. Eine Erklärung für diesen Vorgang erscheint nur möglich, wenn man annimmt, daß in die alkoholischen Organauszüge auch artspezifische Stoffe übergehen, die mit dem artgleichen Eiweiß reagieren¹⁾. Diese Beobachtung würde ein Analogon darstellen zu den schönen Untersuchungen Muchs, dem es gelungen ist, mit alkoholischen Bakterienauszügen spezifische Antikörper im Tier zu erzeugen. Es sei auch daran erinnert, daß Mallein durch Alkohol zwar gefällt, aber nicht seiner spezifischen Wirksamkeit beraubt wird. Meine Beobachtung des Ueberganges spezifischer Stoffe in alkoholische Organaus-

1) Vgl. auch Landsteiner, „Ueber Kolloide . . .“, im Kolle-Wassermannschen Handbuch.

züge legt ferner von neuem den Gedanken nahe, ob nicht die im allgemeinen bestätigte Ueberlegenheit der ausluetischen Lebern gewonnenen Wassermannextrakte doch zum Teil auf einer spezifischluetischen Komponente beruhen könnte. Jedenfalls ist meine Beobachtung ein neuer Hinweis darauf, daß entgegen den früheren Anschauungen auch in alkoholische Auszüge spezifische Stoffe übergehen.

Wie sehr die alkoholischen Organauszüge verschiedener Tierarten voneinander abweichen, zeigt auch folgende Beobachtung: Auszüge aus Organen von Menschen wirken auf alle Menschensera im wesentlichen in gleicher Weise fällend ein¹⁾. Ganz anders verhalten sich Extrakte aus Herzen oder Lebern von Rindern. Diese fallen unter gleichen Versuchsbedingungen mit gewissen Ausnahmen nur dieluetischen wassermannpositiven Menschensera, nicht aber die übrigen. (Vgl. auch die Cuorinseroreaktion, zitiert bei Boas: „Die Wassermannsche Reaktion“.) Läßt man die gebrauchsfertigen, mit destilliertem Wasser hergestellten Verdünnungen der verschiedenen alkoholischen Extrakte längere Zeit stehen, so erhöht sich bei stark wirksamen Wassermannextrakten das Fällungs- und Bindungsvermögen noch, während es sich bei schwach wirksamen weiter abschwächt (Laborantin E. Brandt). Im Gegensatz dazu verändern sich Extrakte aus Rinderorganen bei längerem Stehen nicht nur graduell, sondern in ihrem Wesen. Während sie am Tage der Verdünnung im allgemeinen nur die wassermannpositiven Sera ausfällen, flocken sie nach einigen Tagen sämtliche menschliche Sera aus. Aber die Flocken aller Sera, auch der nichtluetischen, sind dann so kochsalzbeständig, daß Unterschiede zwischen positiven und negativen Seren nicht mehr festzustellen sind.

Zusatz einer 1-proz. alkoholischen Lösung von Natrium glycocholicum erhöht bei schwachen Menschenorganextrakten das Fällungs- und Bindungsvermögen, bei stark wirksamen Auszügen aus Menschen- oder Pferdeorganen hemmt es dagegen die Fällungskraft, wirkt aber auch hier im Sinne einer besseren

1) Technik, wie in der Luesarbeit, Berl. klin. Wochenschr., 1918. No. 4, angegeben.

Bindung. Die Unterschiede zwischen positiven und negativen Röhrchen treten bei Verwendung von Natrium glycocholicum schon bei niedriger prozentigen Kochsalzlösungen deutlich hervor, die Versuchsergebnisse werden also schärfer. Im Gegensatz dazu ist es mir nicht gelungen, Extrakte aus Rinderorganen im gleichen Sinne durch Natrium glycocholicum zu beeinflussen.

Bei der Luesdiagnose hat es sich bewährt, die Extrakte beim Verdünnen nicht durch Hineintropfenlassen des Wassers zu erschüttern. Bei der Rotzdiagnose ist gerade diese durch den Tropfenfall bewirkte Erschütterung notwendig, um eine gleichmäßige Aufschließung der Extraktstoffe zu sichern. Mit Recht hat schon Sachs (Berl. klin. Wochenschr., 1908 und 1911) darauf aufmerksam gemacht, daß das relative Verhältnis der in einem Organextrakt gelösten Lipoiden und die molekulare Größe der kolloidal gelösten Teilchen von entscheidender Bedeutung für seine Wirksamkeit ist. Das genauere Studium der verschiedenen Organextrakte und des Einflusses verschiedener Zusätze auf ihre Wirksamkeit verspricht noch reiche wissenschaftliche Ausbeute. So würde z. B. der Nachweis des Grundes, warum Rinderorganextrakte im wesentlichen nurluetische Sera zu fällen vermögen, wohl sicher ein Licht auf die bei der Wassermannschen Reaktion beteiligten Stoffe werfen.

Die Lipoidbindungsreaktion ist, wie aus dem Mitgeteilten hervorgeht, in hohem Maße von den Eigenschaften der alkoholischen Organauszüge und der Art ihrer Aufschließung abhängig. Die für die Bereitung des gebrauchsfertigen Extraktes von mir generell angegebene Verdünnung von 1:8 ist aus folgendem Grunde gewählt: Flockt man Sera mit in Wasser verdünntem Alkohol aus, so sind die Flocken durch Kochsalz wieder zu lösen, und zwar in den Alkoholverdünnungen 1:4 bis etwa 1:16. Bei der Verdünnung 1:2 bzw. 1:3 sind die Flocken nicht voll reversibel, weil in diesen starken Konzentrationen das Eiweiß der Sera durch den konzentrierten Alkohol zu stark verändert wird. In den über 1:16 hinausgehenden Verdünnungen erfolgt die Flockung der Sera nicht

so sehr durch die Spuren Alkohol, die in den Verdünnungen enthalten sind, als durch das Verdünnungsmittel, das Wasser selbst. Die durch Wasser in inaktivierten Seren erzeugten Flocken sind aber mit Kochsalz nicht zu lösen. Es war daher geboten, für die Versuche eine Verdünnung zu wählen, die möglichst in der Mitte zwischen der Wirkung des reinen Alkohols und der Wasserwirkung lag und auf Kochsalzzusatz stets sicher und scharf reagierte.

Der Ausfall der Lipoidbindungsreaktion ist ferner bedingt durch zeitliche und Temperaturverhältnisse; für die Luesreaktion gelten dabei folgende Grundsätze: Die Versuchsröhrchen müssen mindestens 16 Stunden im Brutschrank verweilen, weil sonst die Sera nicht maximal ausgeflockt werden und weil die Flocken, auch wenn sie schon nach etwa 3 Stunden in den positiven Röhrchen stark gebildet sind, nach so kurzer Zeit noch nicht den genügenden Grad von Kochsalzresistenz erworben haben, um scharfe Resultate zu geben. Auch die Temperaturverhältnisse der Reaktion bieten manches Interessante: Bei Temperaturen von etwa 2° ist die Flockung der Sera durch Organextrakte sehr schwach, bei etwa 12° sehr gut, besser als bei 37° . Aber die bei 12° gebildeten Flocken sind leicht zerfließlich und zeigen auch in den positiven Röhrchen keine hinreichende Kochsalzresistenz; nur die Flocken der äußerst stark positiven Luessera sind auch dann beständig. Ein weiteres Optimum der Flockungstemperatur liegt bei 45° oder darüber. Die bei dieser Temperatur gebildeten Flocken sind aber auch in den negativen Seren so widerstandsfähig, daß sie mit Kochsalz nicht mehr zu lösen sind. Der Versuch muß daher zwischen 12° und 45° angesetzt werden. Ich habe Brutschranktemperatur gewählt, weil alle Laboratorien darauf eingerichtet sind und die Zimmertemperatur starken Schwankungen ausgesetzt ist. Außerdem ist auch Flockung und Bindung bei 37° im allgemeinen besser als bei Zimmertemperatur. Fällt man die Sera dagegen nicht mit Organextrakten, sondern mit verdünntem Alkohol aus, so ist die Flockung bei 37° wesentlich schwächer als bei Zimmertemperatur. Kommen die Sera sehr kalt in den Versuch, so tritt manchmal eine plötzliche, außerordentlich starke, weit über das gewohnte Maß hinausgehende Ausfällung ein.

Die Sera dürfen nie sofort nach dem Inaktivieren zum Versuch genommen werden, weil dann die Zustandsänderung, die sie durch das Inaktivieren erfahren, noch nicht stabil genug geworden ist (vgl. auch Bruck, Münch. med. Wochenschr., 1917). Frisch inaktivierte Sera stehen in der Art der Ausflockung und Bindung zwischen aktiven und inaktiven Seren. Bei aktiven Menschenserum ist Flockung und Bindung in der Regel optimal, wenn man zu 0,2 ccm Serum 1,5 bis 2,0 ccm der Extraktverdünnung gibt. Bei inaktiven dagegen liegt das Optimum in der Nähe von 1 ccm Extrakt. Einige positive luetische Sera entgehen dem Nachweis, wenn man zu dem inaktivierten Serum 1,5 ccm Extrakt gegeben hat, weil die Bindung dann nicht optimal wird und die Flocken sich durch Kochsalz wieder lösen. Dasselbe Serum gibt einwandfrei positive Reaktionen, wenn man anstatt 1,5 ccm Extrakt nur 0,8 oder 1,0 ccm hinzufügt.

Inaktiviert man die Sera länger als eine Viertelstunde, so nimmt ihre Fällbarkeit bis zu $\frac{3}{4}$ Stunden progressiv ab, steigt dann nach einstündigem Inaktivieren aber häufig wieder etwas an. Trotz ihrer schwereren Fällbarkeit sind die Flocken in $\frac{1}{2}$ Stunde oder $\frac{3}{4}$ Stunden inaktivierten Seren aber resistenter gegen Kochsalz als die der $\frac{1}{4}$ Stunde inaktivierten.

Aus allen diesen Beobachtungen geht hervor, daß man sich bei einer Nachprüfung der von mir angegebenen Methoden streng an die Versuchsanweisung halten muß und sich durch eigene Vorversuche Klarheit über die Wirksamkeit der verwandten Organextrakte und über die quantitativen Verhältnisse der Reaktion zu verschaffen hat. Aber auch bei Beobachtung aller Kautelen hat die Lipoidbindungsreaktion eine Fehlerquelle, die ihr wenigstens in ihrer bisherigen Gestalt nicht zu nehmen ist, das ist die individuell verschiedene Fällbarkeit der einzelnen Sera und die in gewissen Grenzen schwankende Kochsalzbeständigkeit der normalen Serumflocken. Zwar kann man diese Fehlerquelle durch Übung und Anstellung geeigneter Kontrollversuche in der Praxis auf ein Minimum einschränken. Aber in ihrem Wesen kann man sie wohl nicht ausschalten, solange

meine Lipoidbindungsreaktion als Fällungsreaktion in Erscheinung tritt.

In der neueren Literatur findet man immer wieder von den verschiedensten Seiten den Standpunkt vertreten, daß das Wesen der Wassermannschen Reaktion auf der besonders leichten Fällbarkeit der Globuline derluetischen Sera beruhe. An Tausenden von Versuchsprotokollen kann ich den Nachweis führen, daß die Fällbarkeit der Sera dem Wesen nach nichts mit dem Ausfall der Wassermannschen Probe zu tun hat. Zwar ist wie bei jeder Erkrankung, die mit Einschmelzung von Körpergewebe einhergeht, auch in gewissen Stadien der Lues, namentlich im sekundären Stadium die Fällbarkeit der Globuline erhöht. Aber das ist in keiner Weise etwas für Syphilis Charakteristisches; ich bin darauf schon früher an anderer Stelle eingegangen¹⁾. Die verschiedenen Grade der Fällbarkeit menschlicher Sera lassen sich nicht im Sinne der Luesdiagnostik verwerten. Vielmehr sind gerade die Verschiedenheiten in der Fällbarkeit der Sera der Grund, warum Ersatzmethoden der Wassermannschen Reaktion, die mit lipoiden Stoffen arbeiten, wie z. B. die von Porges und Meier oder von Herman und Perutz und anderen mehr, zwar eine ziemlich weitgehende, aber doch nicht praktisch brauchbare Uebereinstimmung mit der Wassermannschen Probe gezeigt haben²⁾. Diese Reaktionen sind nach meiner Auffassung ihrem Wesen nach Lipoidbindungsreaktionen und gleichzeitig Fällungsreaktionen. Von den Autoren, die sie ausgearbeitet haben, ist das bindende Moment der Reaktionen vernachlässigt und im wesentlichen nur die Fällung in Betracht gezogen worden. Beide Vorgänge, die nicht identisch sind, sich aber bei geeigneter Versuchsanordnung in weiten Grenzen decken können, sind bisher nicht klar voneinander geschieden worden. Es war daher nicht zu verwundern, daß Fehlresultate beobachtet wurden, für die eine Erklärung nicht beizubringen war.

1) Münch. med. Wochenschr., 1917, No. 45 u. 51.

2) Berl. klin. Wochenschr., 1918, No. 4.

Im Gegensatz zu den Anschauungen der meisten Autoren, die in der neueren Literatur über diesen Gegenstand zu Worte gekommen sind, muß es meines Erachtens das Ziel der Forschung sein, die Fällbarkeit der Sera ganz aus der Versuchsanordnung auszuschalten und das Bindungsvermögen der Sera in der Lipoidbindungsreaktion ebenso rein herauszuarbeiten, wie das in der Komplementbindungsmethode gelungen ist. Mit meiner Wassermethode¹⁾ habe ich den Nachweis geführt, daß die feste Vereinigung der Luesglobuline mit den Extraktlipoiden keineswegs an den Vorgang der sichtbaren Fällung gebunden ist. Man kann in der Wassermethode Serumglobuline und Extraktlipide in gelöstem Zustand miteinander verankern und die erfolgte Bindung chemisch an der Widerstandsfähigkeit gegenüber den fällenden Eigenschaften des destillierten Wassers nachweisen. Das ist von prinzipieller Wichtigkeit: Es ist nicht im Wesen der Lipoidbindungsreaktion gelegen, daß sie durch eine Fällungsreaktion nachgewiesen wird. Ebenfalls grundlegende Bedeutung scheint mir die von mir gemachte Beobachtung zu haben, daß man die erfolgte Bindung von Serumglobulinen und Extraktlipoiden chemisch nachweisen kann. Damit ist ein neues Arbeitsfeld für experimentelle Untersuchungen auf dem Gebiet der Immunitätsreaktionen und der serologischen Luesdiagnostik geschaffen. Es gilt, die Lipoidbindungsreaktion von den Schlacken einer Globulinfällungsmethode zu befreien und zu einer reinen chemisch-physikalischen Bindungsreaktion auszugestalten.

Z u s a m m e n f a s s u n g.

1) Die Lipoidbindungsreaktion ist eine Immunitätsreaktion von allgemeiner Gültigkeit, deren Technik sich auf allen ihren Anwendungsgebieten dem Wesen nach gleichbleibt.

1) Berl. klin. Wochenschr., 1917, No. 25 unter „Verhandlungen ärztlicher Gesellschaften“.

2) Sie ist unter anderem zur Eiweißdifferenzierung geeignet.

3) In alkoholische Organextrakte gehen gewisse Mengen artspezifischer Stoffe über.

4) Der Ausfall der Lipoidbindungsreaktion wird durch folgende Bedingungen beeinflusst: Hämolytische Veränderung der Sera, individuell verschiedene Fällbarkeit der Sera, Dauer und Zeitpunkt der Inaktivierung, Zusatz fremder Stoffe zum System, Herkunft und Art der Aufschließung der alkoholischen Organextrakte, Zusatz von Natrium glycocholicum zum Organextrakt, Grad der Extraktverdünnung, quantitative, zeitliche und Temperaturverhältnisse.

5) Bei der Reaktion sind Bindung und Fällung scharf zu trennen. Die Fällung, bzw. die Eigenschaften der Fällungsprodukte bilden den Indikator der Reaktion, sind aber nicht ihr Wesen. Das Wesentliche ist vielmehr die Bindung.

6) Die Methode weist die erfolgte Bindung von Antigen und Antikörper durch ein einfaches Kochsalzverfahren nach und bildet so einen Uebergang von den rein biologischen Reaktionen wie der Komplementbindung zu den chemisch-physikalischen Methoden. (G. C.)

Nachdruck verboten.

[Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie in Dahlem (Direktor: Geheimrat v. Wassermann).]

Ueber ein neues Verfahren zur Herstellung von Kollodiumsäckchen.

Von **H. Citron**, Berlin.

(Eingegangen bei der Redaktion am 25. März 1918.)

Das zu beschreibende Verfahren ermöglicht die Herstellung von Kollodiumsäckchen in jeder beliebigen Form und Größe. Das Prinzip der Methode ist folgendes: In eine

Gelatinekapsel von derjenigen Größe, die man dem Kollodiumsack zu geben beabsichtigt, führt man ein Stückchen gut passenden Gummischlauch ein, erfaßt das freie Ende des Gummischlauches mit einer Pincette, taucht beides 15- bis 20mal in Kollodium unter jedesmaligem Abtropfen, und hängt die Kapsel eine Viertelstunde frei schwebend zum Trocknen auf. Inzwischen können eine Anzahl weiterer Hülse in Arbeit genommen werden. Wenn sie trocken geworden sind, werden sie in heißes Wasser gelegt. — Die Gelatine löst sich auf und läßt sich mit Leichtigkeit aus dem Innern der Kollodiumhülse entfernen. Auch in Pepsinsalzsäure bei Brutschranktemperatur löst sich die Gelatine gut auf. Die übrigbleibende Hülse ist gleichmäßig und absolut dicht. — Defekte, wie sie bei dem unendlich viel mühsameren Abformen über Glas so häufig vorkommen, gibt es nicht. Sehr vorteilhaft ist die feste Verbindung von Kollodiumsack und Gummischlauch; letzterer läßt sich durch Kork- oder Glasstöpsel leicht verschließen, wodurch jegliches Hantieren an der Hülse selbst fortfällt. Dialysierhülsen, die nach diesem Verfahren hergestellt wurden, zeichneten sich durch hervorragendes Diffusionsvermögen, Dichtigkeit und Sterilisierbarkeit aus. Da sich die Hülse vollkommen luft- und keimdicht abschließen läßt, ist man in der Lage, vollkommen steril zu arbeiten. Ueber eine andere Anwendungsart der Kollodiumhülsen zu therapeutischen Zwecken werde ich an anderer Stelle berichten.

(G. C.)

Nachdruck verboten.

[Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie
in Dahlem (Direktor: Geheimrat v. Wassermann).]

Ueber Depotbehandlung mit schwerlöslichen Präparaten mit Hilfe von Kollodiumsäckchen.

Von **H. Citron**, Berlin.

(Eingegangen bei der Redaktion am 25. März 1918.)

An anderer Stelle habe ich über ein von mir im Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie ausgearbeitetes und erprobtes Verfahren berichtet, das die Herstellung von Kollodiumsäckchen in jeder beliebigen Form und Größe ermöglicht. Wir haben uns dieses Verfahrens bedient, um mit seiner Hilfe eine eigenartige und, wie es scheint, sehr wirksame Depotbehandlung mit schwerlöslichen Präparaten durchzuführen. Als Formen benutzten wir zylindrische Gelatine-kapseln¹⁾ von 6 mm Durchmesser und 22 mm Höhe, in die ein kurzes Stück Gummischlauch ein Stückchen weit eingeschoben wurde. Bezüglich der weiteren Herstellung der Kollodiumsäckchen sei auf die frühere Arbeit verwiesen. Der leitende Gesichtspunkt bei unserer Depotbehandlung war der, dem Körper durch die Diffusionshülse nur so lange Medikament zuzuführen, bis der gewünschte Heilerfolg erzielt war, dann den Ueberschuß des Medikaments geschlossen und restlos zu entfernen und so Giftwirkungen auszuschließen. — Zur Beobachtung des Heileffektes eignen sich naturgemäß am besten solche Krankheiten, bei denen die Wirkung bzw. Nichtwirkung scharf ins Auge springt. — Wir wählten die Trypanosomenkrankheit bei Mäusen und Ratten, die bekanntlich am Blutbilde mit großer Leichtigkeit in jedem Augen-

1) Die Kapseln lieferte uns die Berliner Kapselfabrik Johann Lehmann in Berlin NW.

blick beurteilt werden kann. Zu diesem Zweck verfahren wir folgendermaßen. Wir brachten in ein Kollodiumsäckchen einige Tropfen Altsalvarsanlösung, machten mit einem Tropfen Sodalösung alkalisch und verschlossen die Kapsel mit einem kleinen Glasstöpsel. Durch Einlegen in Wasser wurde festgestellt, ob die Kapsel vollkommen dicht schließe. Die geringste Undichtigkeit macht sich durch Gelbfärbung des Wassers bemerklich.

Als Versuchsobjekte wählten wir Mäuse, die mit Trypanosomen infiziert waren und dieselben bereits im Blute zeigten. Bei diesen Tieren wurde dicht oberhalb der Schwanzwurzel an einer gerupften Stelle die Haut quer eingeschnitten, mit sterilem Platindraht ein Stück weit abgelöst und die Kapsel so weit eingeschoben, daß ein Stückchen des Gummi noch herausragte. Die Wunde wurde durch eine Michelsche Klammer geschlossen, die gleichzeitig ein Herausgleiten der Kapsel verhinderte. Das Ergebnis der Versuche (vgl. Protokoll I, II, III) war folgendes: Selbst schwerkranke, hochinfizierte Tiere sind bereits am Tage nach der Einführung der Arzneimittel geheilt. Sämtliche Kontrollen sind tot. Die Kapseln sind dicht und enthalten noch reichliche Mengen Salvarsan.

Wir versuchten nun das Medikament in schwer löslicher Form einzuführen; hierbei kann durch die Kapselwand hindurch nur so viel Salvarsan diffundieren, als der eindringende Gewebssaft löst. Es ist klar, daß eine etwaige Heilung, nach deren Eintritt das Depot entfernt wird, hier mit einem Minimum von Arzneisubstanz erzielt wird. Wir führten daher das Salvarsan in die sehr schwer lösliche Kalkverbindung über, indem wir einige Tropfen Salvarsanlösung in die Kapsel hineinbrachten und Chlorkalziumlösung hinzufügten. — Das Ergebnis der Salvarsankalziumversuche (vgl. Protokoll IV—IX) war folgendes: Sämtliche Mäuse sind am Tage nach der Einbringung der Arzneikapsel frei von Trypanosomen. Eine schwer infizierte Ratte (VIII), die dem Blutbilde nach erfahrungsmäßig am nächsten Tage hätte tot sein müssen, bleibt am Leben. Die Trypanosomen verschwinden erst nach 4 Tagen. Das Tier stirbt in der 3. Woche. Trypanosomen werden nicht gefunden. Die Salvarsankalkversuche

sprechen eindeutig für die Wirksamkeit dieser Depotbehandlung bei minimalem Arzneiverbrauch. Schwieriger liegen die Dinge bei Anwendung von Antimonpräparaten (Protokoll X, XI, XII). Hier scheint es, daß die Resorption verhältnismäßig langsamer vor sich geht. Ein schwer infiziertes Tier geht trotz Depotbehandlung zugrunde. Leicht infizierte Tiere haben am Tage nach der Behandlung noch Trypanosomen, sind aber nach 48 Stunden frei.

Eine weitere Fortführung unserer Versuche, die uns fruchtbringend und aussichtsvoll erschienen, verhinderte der Krieg. Zu denken wäre unter anderem an die Ausdehnung der Methode auf die unlöslichen Quecksilberpräparate bei der Syphilis und an das schwer lösliche basische Optochin bei der Pneumonie. — Die Versuche sind bisher über den Tierversuch nicht hinausgekommen. Falls sie auf den Menschen übertragen werden sollten, würde sich für die Anlegung eines Kollodiumdepots der Vorderarm am besten eignen, die Stelle, an welcher die alten Aerzte ihre Fontanellen anlegten.

Protokolle.

I. 26. VI. 14. Maus am 20. VI. infiziert, Blut stark trypanosomenhaltig, erhält eine Kapsel Salvarsansodalösung. 27. VI. 14 Blut trypanosomenfrei. Kapsel entfernt, ist dicht, mit gelbem Inhalt gefüllt. Kontrolle: Tier der gleichen Serie †.

II. 29. VI. 14. Maus am 23. VI. infiziert, Blut stark trypanosomenhaltig, erhält eine Kapsel Salvarsansodalösung. 30. VI. 14 Tier lebt, hat Kapseln verloren, stirbt am selben Tage.

III. 30. VI. 14. 2 Mäuse am 26. VI. infiziert, Blut stark trypanosomenhaltig. a) erhält eine Kapsel Salvarsansodalösung; b) nichts. 1. VII. 14 a) geheilt, Kapsel dicht; b) †.

IV. 1. VII. 14. 2 Mäuse am 27. VI. infiziert, viel Trypanosomen. a) Kapsel mit Salvarsankalk; b) Kontrolle. 2. VII. 14 a) keine Trypanosomen. Kapsel entfernt, dicht, enthält gelben Brei. b) †.

V. 2. VII. 14. 2 Mäuse am 28. VI. infiziert, stark trypanosomenhaltig. Kapsel mit Salvarsankalk. 3. VII. 14 beide Tiere frei von Trypanosomen. Tier a: Kapsel entfernt 4. VII. 14. Tier b: Kapsel entfernt 15. VII. 14. Beide Tiere gesund.

VI. 15. VII. 14. 4 Mäuse am 13. VII. mit trypanosomenhaltigem Rattenblut geimpft. Sämtliche Tiere haben Trypanosomen. a) 2 Tiere erhalten eine Kapsel Salvarsankalk. b) 2 Kontrollen. 16. VII. 14 keine

Trypanosomen. Dem einen Tiere Kapsel entfernt. b) Zahlreiche Trypanosomen. 17. VII. 14 dem zweiten Tier Kapsel entfernt. Kontrolle †. 31. VII. 14 Tiere a am Leben.

VII. 4. VII. 14. Maus am 1. VII. infiziert, schwer krank. Salvarsankalkkapsel. 6. VII. keine Trypanosomen.

VIII. 13. VII. 14. Ratte schwer infiziert. Salvarsankalkkapsel. 14. VII. 14 Tier lebt, Blut viel Trypanosomen. 15. VII. 14 desgleichen. 17. VII. 14 frei von Trypanosomen. Kapsel entfernt. 30. VII. 14 Tier †, keine Trypanosomen.

IX. 29. VII. 14. 4 Mäuse mit trypanosomenhaltigem Meerschweinchenblut geimpft. 31. VII. 14 Salvarsankalkkapsel. 1. VIII. 14 frei von Trypanosomen. Kapseln entfernt. Dicht, mit gelbem Brei gefüllt.

X. 2. VII. 14. 3 Mäuse schwer infiziert. a) erhält eine Kapsel mit Antimontrioxyd; b) desgleichen mit kolloidalem Antimon; c) Kontrolle. 3. VII. 14: a) und c) †; b) am Leben, aber Trypanosomen.

XI. 6. VII. 14. Leicht infiziertes Tier erhält Kapsel mit Sb. O₃. 7. VII. 14 wenig Trypanosomen; 8. VII. 14 frei.

XII. 8. VII. 14. Leicht infiziertes Tier erhält Kapsel mit Sb. O₃. 9. VII. 14 wenig Trypanosomen; 10. VII. 14 frei. (G. C.)

Nachdruck verboten.

[Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie
in Dahlem (Direktor: Geheimrat v. Wassermann).]

**Ueber die Einwirkung des Mesothoriums
auf Trypanosomen.**

Von **H. Citron**, Berlin.

(Eingegangen bei der Redaktion am 25. März 1918.)

Die Einwirkung der vom Mesothorium ausgesandten Strahlen auf tierische Gewebe hat seit längerer Zeit ausgiebige klinische Verwendung gefunden. In erster Linie war es die Beeinflussung bösartiger Geschwülste durch diese Strahlen, die großes Interesse hervorgerufen hat. Aber auch die Experimentalforschung hat sich dem Studium der Mesothoriumstrahlung zugewandt und ihre biologische Wirksamkeit im Tierversuch erforscht. A. v. Wassermann zeigte, daß bestrahltes Mäusecarcinomgewebe seine Fortpflanzungsfähigkeit verlor, ohne anscheinend an seinen sonstigen vitalen Eigenschaften etwas einzubüßen. v. Wassermann schließt hieraus auf eine Schädigung der gonophoren Elemente bei Erhaltenbleiben der Nutrizeptoren. Ein anderes, für das Studium der Mesothoriumstrahlen sehr geeignetes Objekt bilden die Trypanosomen. Halberstädter fand, daß die Trypanosomen nach längerer Mesothoriumbestrahlung ihre Beweglichkeit bewahrt hatten, aber nicht mehr infektiös waren. Wir haben die Versuche Halberstädters wieder aufgenommen, filtrierten jedoch die β -Strahlen durch ein Aluminiumfilter ab, so daß nur die γ -Strahlen zur Wirkung kamen. Die Mesothoriumkapsel enthielt 50 mg Mesothorium und war dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie von der Auer-Gesellschaft zur Verfügung gestellt. Als Ausgangsmaterial diente ein Nganastamm, der im Kaiserl. Gesundheitsamt gezüchtet und uns von demselben freundlichst überlassen worden war. Es ist ein stark virulenter Stamm, der im Kaiserl.

Gesundheitsamt auf Ratten, bei uns auf Mäusen weitergezüchtet wurde. Bei subkutaner Injektion in nicht zu starker Verdünnung waren nach 48 Stunden die ersten Trypanosomen im Blute nachweisbar. Wir haben die Bestrahlungsversuche nach den verschiedensten Richtungen hin variiert. Zunächst haben wir die Bestrahlungen in kleinen Reagenzgläsern von 6 mm Durchmesser und 5 cm Länge vorgenommen, wobei das Blut in Kochsalzlösung aufgefangen und die Mesothoriumskapsel einfach hineingesetzt wurde. Stets wurden Kontrollen mit leeren Kapseln die gleiche Zeit hindurch in Berührung gelassen. Die Bestrahlung erfolgte bei Zimmertemperatur, da die Trypanosomen im Brutschrank rasch unbeweglich werden. Statt Kochsalzlösung wendeten wir auch Ringerlösung an. Länger als 1 Stunde konnte die Bestrahlung nicht fortgesetzt werden, da die Beweglichkeit der Trypanosomen dann erloschen war. Wir fanden bei diesen Versuchen, daß einstündige Bestrahlung nicht genügt, um eine vollständige Sterilisierung hervorzubringen. Die geimpften Tiere erkrankten ebenso wie die Kontrollen und gehen wie diese zugrunde. Unverkennbar ist eine Verzögerung des Todes bei den Mesothoriumtieren, weniger deutlich, obwohl verschiedentlich nachweisbar, eine Verzögerung der Infektion. Um die Bestrahlung über längere Zeiträume ausdehnen zu können, brauchten wir Mittel, die die Trypanosomen längere Zeit beweglich erhalten. Wir versetzten zu diesem Zweck die Kochsalzlösung mit Leberextrakt und konnten auf diese Weise die Trypanosomen $2\frac{1}{2}$ Stunden beweglich erhalten. Auch in diesen Versuchen fanden wir Abschwächung der Infektion, die sich in Verzögerung des Todes ausdrückte. Noch geeigneter als Leberextrakt erschien uns ein anderes Substrat. Wir gingen von der Ueberlegung aus, daß frisches Meerschweinchen- und Kaninchenserum ein ausgezeichnetes Mittel ist, um Trypanosomen längere Zeit beweglich zu erhalten, ja selbst um unbewegliche Trypanosomen wieder zu kräftigem Geißelschlagen zu bringen. Da wir gerade mit Versuchen zur Herstellung von Kaninchenplasma beschäftigt waren, wählten wir dieses statt des Serums. Wir stellten es im Anfang dar durch Auffangen von Kaninchenblut aus der Ohrvene in einem Zentrifugenglas von 10 ccm

Inhalt, in dem sich 1 ccm einer 15-proz. Natriumcitratlösung befand. Das durch Zentrifugieren abgeschiedene Plasma erhielt die Trypanosomen stundenlang beweglich. Später stellten wir auch Plasma mit Hilfe von Hirudin dar. Wenige Stäubchen Hirudin genügten, um das Blut beliebig lange flüssig zu erhalten und beim Zentrifugieren ein klares Plasma zu erzielen. Auch in diesem Plasma blieben die Trypanosomen bis zu 4 Stunden beweglich. Die Infektionsversuche hatten auch nach so langer Bestrahlung dasselbe Ergebnis wie die früheren.

Wir haben dann versucht, eine ausgiebigere Sterilisierung durch Verminderung der bestrahlten Flüssigkeitsmenge zu erzielen. Es erschien immerhin möglich, daß bei der relativ großen Flüssigkeitsmenge, die bisher angewendet worden war, einzelne Trypanosomen der Strahlenwirkung entgingen, und auf diese Weise eine Infektion zustande kam. Wir haben die Bestrahlungen daher in Gläsern von 1,5 cm Länge und 5 mm Durchmesser vorgenommen. In einigen Fällen wurde, um ein Minimum von Flüssigkeit zu haben, folgender Weg gewählt. Ein Glasschälchen wurde mit Paraffin ausgegossen, vor dem völligen Erstarren die Mesothoriumkapsel hineingedrückt und wieder herausgezogen. In dieses „Paraffinbett“ wurden einige Tropfen der Trypanosomenaufschwemmung gegeben und die Kapsel aufgelegt, so daß ein inniger Kontakt entstand. Nach beendeter Bestrahlung wurde die Kapsel vorsichtig herausgenommen, einige Tropfen Kochsalzlösung hinzugefügt, mit einer sehr feinen Weichhardtschen Pipette aufgesaugt und das Material injiziert. Auch in diesen Versuchen wurde nur Abschwächung, aber keine vollständige Sterilisierung erzielt.

Eine weitere Modifikation der Versuche betraf die Konzentration der Aufschwemmung. Während wir anfänglich mit sehr konzentrierten Aufschwemmungen arbeiteten, sind wir später zu starken Verdünnungen mit Plasma und Kochsalzlösung übergegangen. Wir hatten zunächst Schwierigkeiten, die darin bestanden, daß in dem sehr verdünnten Medium nach beendeter Bestrahlung keine Trypanosomen aufzufinden waren. Wir haben uns dann durch einen Kunstgriff geholfen. Auch aus sehr verdünnten Aufschwemmungen setzt sich regelmäßig in den Gläsern ein Bodensatz ab, der die roten Blut-

körperchen und die Trypanosomen enthielt. Senkt man eine sehr feine Kapillare, deren oberes Ende zugeschmolzen ist, bis auf den Boden des Gläschens und bricht die Spitze ab, sobald man den Boden berührt, so erhält man einige Tropfen, die verhältnismäßig reich an Trypanosomen sind. Auf diese Weise konnten wir während des Versuches uns jederzeit von der Lebensfähigkeit der Trypanosomen überzeugen.

Das Arbeiten mit sehr verdünnten Aufschwemmungen hat den Vorteil, daß die Versuche an infizierten und Kontrolltieren sich innerhalb größerer Zeiträume abspielen. Wir erzielten beim Arbeiten mit starken Verdünnungen Lebensdauern von 10 Tagen und darüber. Die Unterschiede aber bleiben immer nur quantitative. Qualitativ verhalten sich die Tiere genau ebenso wie die mit konzentrierten Aufschwemmungen behandelten: sie überleben die Kontrolltiere, gehen aber schließlich an der Infektion zugrunde.

Im Anschluß an unsere Bestrahlungsversuche seien noch einige Versuchsreihen erwähnt, die wir mit Atoxyl anstellten. Behandelt man trypanosomenkranke Tiere mit Atoxyl, so zeigen sie je nach der Höhe der Dosis ein durchaus gesetzmäßiges Verhalten. Während ein unbehandeltes Tier am 3. Tage eingeht, lebt ein Tier, das 0,1 bekommt, 4 Tage, desgleichen 0,2, 5 Tage, desgleichen 0,3, 8 Tage, desgleichen 0,4, bleibt gesund. Nun hat Molduan angegeben, daß die Beeinflussung durch Atoxyl um so stärker ist, je vorgerückter das Krankheitsstadium ist, in welchem die Tiere die Heilimpfung erhalten. Es gelang ihm in der Regel, seine Tiere vor der Heilimpfung höchstens 4 Tage am Leben zu erhalten, er konnte dann mit Dosen von 0,2 Heilung erzielen. Wir haben versucht, bei Tieren am 8.—10. Krankheitstage mit noch kleineren Dosen Heilung zu erzielen, sahen aber keinen Erfolg. Wir haben nur in einem Falle eine Verzögerung, in keinem eine Heilung mit 0,1 Atoxyl erzielt.

Die Verwendung von Serum bzw. Plasma zur Lebensverlängerung der Trypanosomen führte uns vorübergehend zur Beschäftigung mit denjenigen Stoffen, die hierbei wirksam sind. Dialysiert man Serum bzw. Plasma, so geht der lebensverlängernde Stoff in das Dialysat über, durch Kochen wird er nicht zerstört. Wir haben auch versucht — nach der von

Schern angegebenen Methode — den Stoff aus dem Dialysat zu isolieren, indem wir dasselbe eindampften, mit Alkohol extrahierten, den Alkohol verjagten und den Rückstand mit Kochsalzlösung wieder aufnahmen. Die erhaltene Flüssigkeit zeigte indessen die ursprünglichen Eigenschaften der Lebensverlängerung nicht mehr.

Als Ergebnis der mitgeteilten Versuchsreihen wurde folgendes festgestellt: Die Bestrahlung von Trypanosomen mit γ -Strahlen bewirkt auch bei mehrstündiger Dauer keine Sterilisierung, sondern nur eine Abschwächung der Infektion in der Weise, daß die geimpften Tiere später sterben als die Kontrollen. Der im Serum enthaltene, für Trypanosomen lebensverlängernde Stoff ging voll wirksam in das Dialysat über.

Von einer Wiedergabe unserer umfänglichen Protokollserien wurde zwecks Papierersparnis Abstand genommen.

(G. C.)

Nachdruck verboten.

[Aus des Verfassers Laboratorium.]

Ueber den Einfluß der Toxizität des Komplements und der Hämagglutination auf den Ablauf der Hämolyse.

Von Dr. Ludwig Neufeld in Posen.

(Eingegangen bei der Redaktion am 27. März 1918.)

Ueber die hämolytische Immunität besitzt die biologische Wissenschaft ein umfangreiches Beobachtungsmaterial, und man kann fast sagen, daß eine wesentliche Aenderung unserer Vorstellung erst dann möglich sein wird, wenn unsere mikrophysikalischen und mikrochemischen Kenntnisse sich vervollkommen haben werden.

Die wissenschaftliche Auffassung der hämolytischen Immunität wird beherrscht durch die Ehrlichsche Seitenketten-Theorie. Es ist bekannt, daß diese Ehrlichsche Auffassung von der hämolytischen Immunität vielfach angegriffen worden ist, speziell von Buchner, Bordet, Gruber, Bail und anderen. Die nachstehende Untersuchungsreihe wurde eigent-

lich von einem rein praktischen Gesichtspunkte angefangen. Es ist eine bekannte Tatsache, und man kann sich leicht davon überzeugen, daß wir für die Wassermannsche Reaktion ohne Meerschweinchenkomplement nicht auskommen. Ersetzt man das Meerschweinchen Serum durch das Komplement irgendeines der uns durch den menschlichen Gebrauch zugänglichen Tiere, so gelangt man zu unbrauchbaren Resultaten, und es schien mir eine reizvolle Aufgabe zu sein, durch vergleichende Untersuchungsreihen diese Verhältnisse zu studieren, vielleicht einen Anhaltspunkt dafür durch vergleichende Betrachtungen zu finden, welche Komplemente die „passenden“ sind. Denn es schien mir nicht unwahrscheinlich zu sein, daß die außerordentliche Gesetzmäßigkeit, die darin waltet, daß ein Serum einer Tierart einen Immunkörper reaktiviert oder nicht, zu Vergleichsresultaten führen könnte. Daß eine solche Gesetzmäßigkeit besteht, wissen wir durch unsere Erfahrungen bei der Wassermannschen Reaktion. So hat erst neuerdings diese Beobachtung C. Lange¹⁾ aus dem v. Wassermannschen Laboratorium bestätigt, daß nämlich die Komplementmenge, welche mit der 4-fachen Ambozeptordosis eines vom Kaninchen gewonnenen Immunkörpers gegen Hammelblut hämolysiert, vorausgesetzt, daß das Meerschweinchen Serum frisch ist, eine ganz stabile Größe darstellt, die man als feststehend betrachten kann.

Daß unsere Kenntnisse in Hinsicht der Komplementwirkung andererseits noch durchaus ungeklärt sind, wird neuerdings wieder von Kaub²⁾ betont.

Wenden wir uns nun den Anschauungen zu, die von der Ehrlichschen Hypothese abweichen. Es kommen hier vorwiegend die Buchner-Bordetschen Theorien in Betracht.

Nach Buchner³⁾ ist die Komplement gleich Alexinwirkung einheitlich. Er hält durch die Ehrlichsche Beweisführung es für nicht erwiesen, daß eine Hämolysie ohne Immunkörperwirkung unmöglich sei. Er hält diese Beweisführung für unmöglich, da bisher kein Experimentator eine reine Alexinlösung, welche von allen Zwischenkörpern frei ist, in Händen hatte. Er gibt zu, daß in den normalen Seren sich sensibilisierende

1) C. Lange, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 26.

2) Kaub, Arch. f. Hygiene, 1918.

3) Buchner, Berl. klin. Wochenschr., 1901.

Substanzen vorfinden können, welche spezifisch absorbierbar sind und die Hämolyse fördern, nach seiner Meinung ist jedoch das Alexin als solches bereits befähigt, Hämolyse auszulösen. Die ganze Vorstellung, daß chemische Affinitäten das Immunitätsproblem der Hämolyse beherrschen, wird von Bordet in Abrede gestellt. Nach Bordet sind es physikalische Veränderungen, welche der Immunkörper an der Eigensubstanz der Zelle hervorruft. Die Wirkung des Immunkörpers auf die Zelle faßt er als eine Beizwirkung auf. An den gebeizten Blutkörperchen vermag das Komplement zu haften und zur Wirkung zu gelangen. Gegen die Ehrliche Vorstellung spricht nach Bordet der Umstand, daß bei Abwesenheit des zelligen Antigens eine Affinität zwischen Immunkörper und Alexin sich nicht nachweisen läßt. Den Umstand, daß ein Serum einen Immunkörper reaktiviert, den anderen nicht, erklärt Bordet anders. Nach ihm beruht die Fähigkeit eines Serums, als Alexin für einen Immunkörper zu wirken, nicht darauf, daß das Alexin sich nicht mit diesem Immunkörper zu verbinden vermag. Bordet nimmt an, daß auch nicht passende Komplemente von den sensibilisierten Blutkörperchen absorbiert werden können, daß das Alexin aber auf eine bestimmte Blutkörperchenart toxischer wirke als auf eine andere, und daß dieser Unterschied in der Toxizität es ist, welcher die Differenz der Alexinwirksamkeit zweier Sera bedingt. „Die Eignung jedes einzelnen Alexins an sich, eine bestimmte Sorte Blutkörperchen zu zerstören, seine toxische Kraft, welche es für dieses oder jenes Element besitzt, bedingen die Unterschiede der Wirksamkeit der Alexine dem mit Immunkörper beladenen Substrat gegenüber.“

Im Verlauf einer Kontroverse¹⁾ über die Wirksamkeit des aktiven Pferdeserums zusammen mit inaktivem Rinderserum gegen Meerschweinchenblut²⁾ sieht Bordet den Ausdruck der geringen toxischen Wirkung des Pferdeserums als Alexin bereits gegeben in dessen mangelnder Fähigkeit, an sich Meerschweinchenblut zu lösen.

Zu den sicher feststehenden Tatsachen der Komplementwirkung dürfte gehören, daß das Komplement durch den Immunisierungsprozeß unbeeinflusst bleibt. Impfen wir andererseits ein Tier mit einer Blutart, gegen welche dieses keine Normalhämolyse besitzt, so tritt zuerst in Erscheinung, daß das Blutserum dieses Tieres hämolytische Eigenschaften gewinnt, die an sich von der Wirkung der Normalhämolyse sich äußerlich nicht unterscheiden. Trotzdem hat also eine Zunahme der Komplementwirksamkeit des Serums nicht stattgefunden.

Thiele und Embleton³⁾ behaupten allerdings, daß der Ambozeptor sich aus dem Komplement entwickle, daß speziell bei solchen Tieren, deren Serum der Normalhämolyse gegen die geimpfte Blutart entbehrt, Immunkörper entstünden, welche im Anfangsprozeß der Immunisierung alle Eigentümlichkeiten des Komplements noch besäßen. Es ist mir aber

1) Bordet, *Annal. de l'Institut Pasteur*, 1906.

2) Sachs und Bauer, *Arb. aus dem Königl. Institut für exp. Ther.* Frankfurt, 1907.

3) *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 20.

ebensowenig wie anderen aufgestoßen, daß die komplementäre Kraft hochgradig immunisierter Tiere sich anders verhielte als die unbehandelten.

Suchen wir uns eine Vorstellung davon zu machen, was man unter der Toxizität des Komplements verstehen könnte und unter welchen Erscheinungen sich dieselbe äußern könnte. Es ist bekannt, daß Buchner für die Normalhämolyse das Alexin als die an sich wirksame Substanz auffaßt, während er den Ehrlichschen Normalambozeptoren nur die Kraft von Hilfskörpern zubilligt. Wenn wir von einer Toxizität des Alexins bei dessen Wirkung zur Reaktivierung eines Immunkörpers sprechen, so müssen wir diese Vorstellung wohl auf die Immunitätsvorgänge übertragen, und es scheint, daß Bordet diesen Gedankengang gehabt hat.

Die weitere Frage ist nun die: kann oder wird sich die Toxizität des Alexins in dieser Hinsicht in der Normalhämolytischen Kraft äußern? Nach der Ehrlichschen Theorie besteht keine Beziehung des Komplements zur Blutart, die das Komplement zu lösen hat. Bei Zufügung des geeigneten passenden Ambozeptors müßte demnach jedes Komplement jede Blutart lösen. Es kann demnach auch für die Wirksamkeit des Komplements die normalhämolytische Kraft in keinerlei Weise in Frage kommen. Anders liegt das für die Bordetsche Auffassung. Es kann natürlich auch ein Serum, das ein toxisches Alexin besitzt, ohne normalhämolytische Wirkung sein, weil es wenig oder gar keine sensibilisierende Substanz besitzt, es wird aber im allgemeinen bereits bei der normalhämolytischen Wirkung sich der Toxizitätsgrad des Alexins zeigen. Dieses scheint um so wahrscheinlicher, da ja nach Metschnikow die Fähigkeit zu sensibilisieren eine ziemlich allgemeine Eigentümlichkeit der Zellen und Körpersäfte sein soll.

Die nachfolgenden Schlußfolgerungen haben wir im Anschluß an ausgedehnte Experimente über Komplementwirkung gemacht. Es konnte nämlich festgestellt werden, daß die Fähigkeit, als Komplement zu wirken, sich im allgemeinen bereits in der normalhämolytischen Kraft eines Serums ankündigt. Sera, die keine Normalhämolyse besitzen, geben schlechte Komplemente. Sera, die starke hämolytische Kraft besitzen, eignen sich zur Komplementwirkung. Die Arbeit hat

hat auch nur experimentelle Feststellungen zum Zweck und beabsichtigt in keiner Weise, zu den herrschenden Theorien Stellung zu nehmen.

Von wesentlicher Bedeutung für die Frage, ob die Toxizität des Alexins einerseits, die physikalische Veränderung des Substrats andererseits für die hämolytische Immunität bedeutende Faktoren sein können, müßte in dem Verhalten von Ambozeptoren zum Ausdruck kommen, welche von Tieren gewonnen sind, die sich verwandtschaftlich fern stehen. Wenn die Veränderung der Blutkörperchen durch den Immunkörper eine physikalische ist, andererseits die toxische Wirkung des Komplements von ausschlaggebender Bedeutung ist, so dürfen die von verschiedenen Tieren stammenden Immunkörper kein stark abweichendes Verhalten voneinander zeigen und müssen zum mindesten mit toxischen Komplementen reaktivierbar sein. Man kann kaum annehmen, daß die physikalischen Veränderungen der Blutkörperchen sich verschieden verhalten werden. Natürlich vorausgesetzt, daß die Immunkörper sich bei den geimpften Tieren in einem annähernd gleichen Verhältnis gebildet haben.

Die Frage der Toxizität des Serums als Komplementwirkungsfaktor hat auch Muir beschäftigt. Muir¹⁾ hat als erster eine ausführliche experimentelle Bestätigung der bereits von Ehrlich gemachten Beobachtung erhoben, daß auch sogenannte nicht passende Komplemente von sensibilisierten Blutkörperchen ausgiebig gebunden werden können, daß es also eine Komplementbindung ohne Hämolyse gibt. Bei einer Nachprüfung der Frage des Einflusses der Herkunft des Immunkörpers kommt er zu dem Resultat, daß die vielfach zitierte Behauptung, daß Vogelambozeptoren von Vogelkomplementen besser reaktiviert werden, Säugetierambozeptoren durch Säugetierkomplemente, irrig sei. Für den gelegentlich nachweisbaren Unterschied in der Komplementwirkung gegen Ambozeptoren verschiedener Herkunft nimmt Muir eine bereits bestehende Toxizität des Immunkörpers an, die nach der Herkunft des Ambozeptors variieren könne. Die Bindung eines Komplements an das Substrat durch die Immunkörper, ohne daß Hämolyse eintritt, erklärt er ebenfalls dadurch, daß dem Komplemente die Toxizität fehle. Die Bordetsche Auffassung von der toxischen Wirkung des Komplements an sich wird von Muir geteilt, und er nimmt ebenfalls an, daß aus diesem Grunde toxische Komplemente geringerer Mengen Immunkörper bedürfen als weniger toxische.

1) Muir, Journal of Pathol. and Bact., Vol. 16.

Der Gedankengang, daß die Toxizität eines Serums gegen eine bestimmte Blutart in Zusammenhang stehe mit seiner Fähigkeit, einen gegen diese Blutart gerichteten Immunkörper zu aktivieren, findet eine Beschränkung ohne weiteres in der von Ehrlich gemachten Erfahrung, daß Normalambozeptoren auch reaktiviert werden können in Fällen, wo Blut und Komplement von derselben Tierart stammten. Arteignes Serum gilt im allgemeinen für atoxisch.

In der Tat hat auch diese Kombination zu einer Kontroverse zwischen Ehrlich und Morgenroth¹⁾ einerseits und Buchner²⁾ und Gruber³⁾ andererseits geführt. Es fällt in der Tat auf, daß die Komplementdosen, die Ehrlich in diesen Fällen verwandte, ungewöhnlich hohe sind. Er selbst bezeichnet sie als reichlich. Zudem gibt Ehrlich selbst an, daß in diesen Fällen, wo Blut und Komplement von derselben Tierart stammten, die Reaktivierung häufig nicht gelingt, wie dies auch von Gruber und Buchner festgestellt worden ist. Gruber⁴⁾ geht so weit, zu behaupten, daß nur bei Immunambozeptoren eine komplementäre Wirkung des homologen Serums nachweisbar sei. Es ist dies aber durch Morgenroth⁵⁾ widerlegt worden, und es ist unzweifelhaft, daß die Reaktivierung von normalen Ambozeptoren durch homologes Komplement gelingt, ja sogar, wenn Blut und Serum vom gleichen Individuum stammen. Wir sahen dies eintreten in einer Kombination, wo der Normalambozeptor vom Menschen stammte, Blut und Komplement vom gleichen Kaninchen. In einigen der von Ehrlich angegebenen Kombinationen konnten wir allerdings beobachten, daß die Reaktivierung nur dann gelang, wenn das Serum Isolysine enthielt, eine Beobachtung, die den Einfluß der Toxizität auf die Komplementwirkung wahrscheinlich machte.

An dieser Stelle muß auch die Theorie von Widal und Rostaine⁶⁾ erwähnt werden, welche die hämolytische Wirkung des Hämoglobinurikerserums dadurch erklären zu können glauben, daß in jedem Organismus ein autolytisches, blutlösendes Ferment vorhanden wäre, welches normalerweise durch antilytische Stoffe paralysiert würde.

Vergleichen wir nun die Wirksamkeit der Komplemente mit einem uns gewohnten Ambozeptor, nämlich einem vom Kaninchen gewonnenen Immunkörper gegen Hammelblut, und ihre hämolytische Fähigkeit.

1) Ehrlich und Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr., 1901.

2) Buchner, Berl. klin. Wochenschr., 1901.

3) Gruber, Münch. med. Wochenschr., 1901.

4) Münch. med. Wochenschr., 1901.

5) Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr., 1902.

6) Compt. rend. de la société de biologie, 1905, 1906.

Tabelle I.

Hämolyse gegen Hammelblut, 5-proz. Aufschwemmung $\frac{1}{2}$ ccm, $2\frac{1}{2}$ ccm
Gesamtvolumen.

Serummenge	0,05	0,1	0,3	0,5	1,5	
Rind	0	0	0	0	0	Hämolyse
	0	0	0	0	0	Konglutination
Schwein	0	HH	HHH	HHH	HHH	Hämolyse
	0	0	0	0	0	Konglutination
Pferd	0	0	0	0	0	Hämolyse
	0	0	0	0	0	Konglutination
Huhn	0	0	HH	HHH	HHH	Hämolyse
	0	0	0	0	0	Konglutination
Ente	0	0	HH	HHH	HHH	Hämolyse
	0	0	0	0	0	Konglutination
Taube	0	0	0	0	0	Hämolyse
	0	0	0	0	0	Konglutination
Meerschweinchen	0	H	HH	HHH	HHH	Hämolyse
	0	0	0	0	0	Konglutination
Mensch	0	HH	0	HHH	HHH	Hämolyse
	0	0	0	0	0	Konglutination

0 = Hämolyse ausbleiben. H = Hämolyse. HH = starke Hämolyse.
HHH = komplette Hämolyse.

Die Tabelle I gibt eine Uebersicht über die normalhämolytische Kraft der benutzten Komplementsera. Die Tabelle II zeigt uns den Ausfall des Experimentes mit einer Komplementmenge, welche entsprechend der hämolytischen Kraft gewählt wurde. Die Versuchsanordnung ist derartig, daß eine 5-proz. Hammelblutaufschwemmung benutzt wurde, von dieser $\frac{1}{2}$ ccm. Das Gesamtvolumen jedes Röhrchens wird auf 2,5 ccm gebracht.

Die Zusammenstellung umfaßt die Sera von Mensch, Meerschweinchen, Huhn, Rind, Taube, Pferd, Schwein, Ente. Auch die späteren Versuche sind in dieser Weise mit 5-proz. Blutaufschwemmung $\frac{1}{2}$ ccm, dem Gesamtvolumen des Versuches 2,5 ccm an gestellt.

Betrachten wir diese Tabelle von dem Standpunkte der toxischen Wirkung des Serums an sich, so mußte das Serum von Mensch, Meerschweinchen, Schwein, Huhn, Ente gute Komplementwirkung erzielen, während Rind, Pferd, Taube, Hammel ungeeignet sein mußten.

Für die atoxischen Komplemente trifft diese Annahme ohne weiteres zu. Wenn wir von der geringfügigen Wirkung des Pferdeserums absehen, die im übrigen auch inkonstant ist, so verhalten sich die atoxischen Sera vollkommen frei von jeder Komplementwirkung.

Tabelle II.

Hammelblutambozeptor von Kaninchen, Titer 1 : 3000, mit 0,05 Meerschweinchenkomplement. Versuchsanordnung 2,5 ccm. $\frac{1}{2}$ ccm Aufschwemmung 5-proz.

Amb.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{160}$	$\frac{1}{320}$	$\frac{1}{640}$	$\frac{1}{1280}$	
1. Hammelserum 0,5.									
	0	0	0	0	0	0	0	0	Hämolyse
	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	Konglutination
2. Pferdeserum 0,5.									
	H	H	H	0	0	0	0	0	Hämolyse
	++	++	++	+++	+++	++	+	+	Konglutination
3. Huhnerum 0,15.									
	HHH	HHH	HHH	HHH	HHH	HHH	HH	HH	Hämolyse
	0	0	0	0	0	0	0	0	Konglutination
4. Rinderserum 0,5.									
	0	0	0	0	0	0	0	0	Hämolyse
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	Konglutination
5. Schweineserum 0,08.									
	HH	HH	HH	HH	HH	HH	H	H	Hämolyse
	++	++	++	++	++	++	++	++	Konglutination
6. Taubenserum 0,5.									
	H	0	0	0	0	0	0	0	Hämolyse
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	Konglutination
7. Entenserum 0,15.									
	H	H	H	H	0	0	0	0	Hämolyse
	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	0	Konglutination
8. Menschenserum 0,1.									
	HHH	HHH	HHH	HHH	HHH	HHH	HHH	HHH	Hämolyse
	0	0	0	0	0	0	0	0	Konglutination

Statt dessen sehen wir bei diesen atoxischen Seren ein Phänomen auftreten, das wir von Muir her kennen, nämlich stärkste Agglutination — Bordet nennt dies Phänomen Konglutination — als Zeichen der eingetretenen Komplementbindung.

Entsprechend ihrer Toxizität wirksam erweisen sich die Seren von Huhn, Meerschweinchen, Mensch, während wir eine begrenzte Wirksamkeit sehen bei Schwein und Ente. Wir sehen nun bei diesen beiden toxischen Komplementen ebenso wie bei den atoxischen Komplementen von Hammel, Pferd, Rind und Taube im stärksten Maße das Phänomen der Agglutination auftreten.

Wir müssen uns die Frage vorlegen, ob diese Erscheinung in ursächlichem Zusammenhang speziell mit der verhinderten

Wirkung der toxischen Komplemente stehen kann. Die Rolle, welche die Serumaktivität bei der Immunität und bei der Abwehr der Infektion spielt, wird sehr verschieden bewertet.

Von vielen Forschern, speziell den Anhängern der Lehre Metschnikows, in letzter Zeit in deutschen Kreisen auch von Bail, wird der dominierende Einfluß der bakteriolytischen Immunitätsvorgänge geleugnet. Noch weniger klar ist die Auffassung über die Agglutination und Präzipitation. Von diesen sagt Bail, daß niemand über die Bedeutung dieses Phänomens irgend etwas auszusagen vermöge. Die ursprüngliche Auffassung Grubers wurde fallen gelassen, die in der Agglutination eine vorbereitende Schädigung der Zelle zum Zwecke der Vernichtung sah, da die Lebensfähigkeit der agglutinierten Keime erhalten bleibt. Ich möchte mich der Ansicht v. Liebermanns anschließen, welcher die Agglutination in Verbindung bringt mit der hämotropen Wirkung des Serums. Es scheint mir nicht zweifelhaft zu sein, daß ein so wichtiges Symptom, das mit solcher Regelmäßigkeit im Reagenzglas beobachtet wird, im ursächlichen Zusammenhang steht entweder mit dem Abwehrvorgang des infizierten Körpers gegen den eingedrungenen Fremdling, oder eine Abwehrbewegung des infizierenden Teils darstellt. Ich glaube, daß man den in der Naturgeschichte sich sonst abspielenden Vorgängen bei zelligen Lebewesen in der Vernichtung der Beweglichkeit eines Feindes, wie wir dies ja bei der Agglutination beweglicher Bakterien sehen, nicht genügend Rechnung trägt, wenn man die Agglutination nicht als eine Abwehrbewegung gegen den eingedrungenen Feind betrachtet; man setzt wohl nur fälschlich die Agglutination in vorwiegende Beziehung zur Bakteriolyse statt zur Phagozytose. Daß räumlich zusammenhängende Bakterien den Freßzellen die Arbeit erleichtern ist, ohne weiteres verständlich. Ursprünglich glaubte man den Vorgang der Agglutination identifizieren zu können mit dem der Sensibilisierung. Diese Auffassung wurde aufgegeben, weil man Zustände der Sensibilisierung und der Agglutination getrennt erhalten kann. Trotzdem sind noch hier die Meinungen sehr geteilt. Nach den bei der Rizin-hämolyse gewonnenen Erfahrung ergab es sich für v. Liebermann¹⁾ zur Evidenz, daß Hämagglutination und Hämatolyse, durch ein und dieselbe Substanz bedingt, nur zwei Stadien derselben Reaktion darstellen. Durch v. Liebermann und v. Fenyvessy wurde festgestellt, daß die osmotische Widerstandskraft sensibilisierter Zellen herabgesetzt, die stark agglutinierte erhöht ist. Bei dieser Auffassung beharren die Autoren trotz Einwänden von anderer Seite, indem sie die anderen Orts erhaltenen Resultate dadurch erklären, daß die Agglutination bei diesen Untersuchungen der sensibilisierten Zellen nicht exakt ausgeschlossen sei. Im allgemeinen wird von den Autoren, welche die Agglutination als Begleiterscheinung der Hämolyse betrachten, der Vorgang wohl in dem Sinne gedeutet, daß die Agglutination die Hämolyse einleitet oder fördert. In diesem Sinne äußert sich auch Bordet, der das Phänomen der Agglutination bei der

1) v. Liebermann, Arch. f. Hygiene, 1907.

Lysis der roten Meerschweinchenblutkörperchen durch inaktives Rinderserum und aktives Pferdeserum, die Konglutination hierfür in Anspruch nimmt. Das inaktive Rinderserum besitzt Normalambozeptoren für Meerschweinchenblut, desgleichen das Pferdeserum, welches jedoch sehr wenig toxisch für Meerschweinchenblut ist. Bringe ich inaktives Rinderserum gleichzeitig mit aktivem Pferdeserum zusammen mit der Meerschweinchenblutsuspension, so tritt rasch Lösung ein. Sensibilisiere ich aber in der üblichen Weise die Blutkörperchen mit inaktivem Rinderserum, entferne das Rinderserum durch Waschung und setze nachträglich Pferdekompement hinzu, so bleibt die Lösung aus. Diese Erscheinung wurde von Ehrlich in dem Sinne gedeutet, daß in diesem speziellen Falle die Sättigung der komplementophilen Gruppe des Ambozeptors notwendig wäre, damit die zytophile Gruppe des Ambozeptors mit dem Rezeptor der Substratzelle, der Meerschweinchenblutzelle, in Verbindung treten könne. Es ist nun von Bordet nachgewiesen worden, daß dem inaktiven Rinderserum eine Wirkung zukommt, die wir heute auxilitisch nennen, nämlich daß das inaktive Rinderserum die Hämolyse befördert, ohne daß diese Wirkung die eines Immunkörpers ist. Wenn wir nämlich Rinderblut und Pferdeserum nehmen und einen gegen Rinderblut gerichteten Ambozeptor hinzusetzen, so tritt keine Hämolyse ein. Setzen wir jedoch gleichzeitig inaktives Rinderserum hinzu, so tritt Hämolyse ein. Es ist selbstverständlich, daß es sich hier nicht um eine Ambozeptorwirkung des inaktiven Rinderserums handeln kann. Diese auxilitische Wirkung des Rinderserums wurde von Bordet identifiziert mit dem Konglutinin¹⁾, d. h. mit jener Substanz, welche bei Anwesenheit von Komplement zu einer extremen Agglutination der Blutkörperchen führt. Diese Substanz wird von Bordet als ein besonderes Kolloid angesehen. Von Bail wird diese Auffassung bestritten, da nach ihm die Agglutination ein komplexer Vorgang ist, dessen Optimum erst durch Zusatz von Komplement erreicht wird. Aus den Untersuchungen von Bordet und Bail²⁾ geht jedenfalls hervor, daß es eine Agglutination gibt, welche erst unter dem Einfluß von aktivem Serum augenfällig wird, und dieser Prozeß steht in nächster Beziehung zu der bereits von Ehrlich gemachten Beobachtung, welche von Muir und Browning ausführlich sichergestellt wurde, daß es eine Komplementfixation ohne Hämolyse gibt, daß es speziell wieder die atoxischen oder nicht passenden Komplemente sind, die, ohne Hämolyse zu verursachen, fixiert werden, und daß diese Komplementbindung begleitet ist von dem Phänomen einer extrem starken, rapid einsetzenden Agglutination (Landsteiner)³⁾. Eine wirklich prinzipielle Unterscheidung läßt sich zwischen Agglutination und Konglutination aus der äußeren Erscheinung kaum herleiten, wenigstens finden wir alle Bezeichnungen, die von Bordet für die Konglutination angeführt werden, von anderen Autoren auch der Agglutination zugebilligt. Man kann sich auch leicht davon überzeugen, daß höhere Dosen inaktivem Rinderserum oder Pferdeserums rasch eine starke Agglutination herbeiführen.

1) Bordet und Streng, Centralbl. f. Bakt., Bd. 49.

2) Bail, Centralbl. f. Bakt., Bd. 51.

3) Landsteiner, Kolle-Wassermann.

Das Wesentliche dürfte also die Beschleunigung der Agglutination durch das Komplement und die Komplementfixation sein.

Die Frage ist nun die: ist die auxilitische Wirkung des inaktiven Rinderserums zu identifizieren mit dem Konglutinin? Oder mit anderen Worten: ist die Agglutination als ein die Hämolyse fördernder Prozeß aufzufassen? Wenn wir uns unsere Tabelle ansehen, so finden wir, daß eine Reihe von Komplementen, die stark toxisch waren, geringe Wirkung erzielten, daß aber diese Erscheinung begleitet war von dem Phänomen, das Bordet als Konglutination bezeichnet hat. Es lag nun nahe, die Erscheinung der Konglutination in Zusammenhang zu bringen mit dem Ausbleiben des hämolytischen Effektes und diesen Vorgang als der Hämolyse entgegenwirkend zu betrachten. Unter dieser Voraussetzung konnten wir es leicht erklären, daß auch toxische Komplemente in ihrer hämolytischen Wirksamkeit verhindert werden. In dieser Ansicht wurden wir auch durch eine Reihe anderer Beobachtungen bestärkt. Bringen wir 0,5 ccm inaktiven Rinderserums zusammen mit 1 ccm Meerschweinchenblutsuspension, so tritt eine langsame, aber doch recht deutliche Agglutination auf. Es steht ja auch das Rinderserum mit obenan in der Bürgischen Reihe der stark agglutinierenden Seren. Zentrifugieren wir nun dies Blut in einem unten abgerundeten Zentrifugengefäß, so zeigt sich ein merkwürdiges, in dieser Weise meines Wissens noch nicht beschriebenes Phänomen. Das Zentrifugat bildet eine zusammenhängende Membran, die man in toto aufschütteln kann und die nur schwer zu einer Suspension wieder zu verteilen ist. Jedenfalls müßte man diese Erscheinung als ein Symptom extremster Agglutination auffassen. Es scheint mir notwendig, an dieser Stelle zu beschreiben, was wir unter dem Phänomen der Konglutination in dieser Arbeit zusammengefaßt haben.

Nehmen wir einen Rinderblutambozeptor und aktives Rinderserum als Komplement. Schon nach wenigen Minuten tritt eine starke Aufhellung der Blutkörperchenaufschwemmung ein, die roten Blutkörperchen vereinigen sich zu Niederschlägen, die oft in merkwürdigen Formen an der Wand der Reagenzglases hängen bleiben. Nach etwa 4 Stunden liegt am Boden des Reagenzglases ein rotes Klümpchen, das schwer oder gar nicht mehr in Suspension zu verteilen ist, das Konglutinat. Dieses ist offensichtlich voluminöser als ein entsprechendes normales Blutkörperchensediment. Gelingt es, das Konglutinat durch Schütteln zu verteilen, so haben die ge-

trennten Teile ein außerordentlich starkes Bestreben, sich wieder zu vereinigen und zu Boden zu sinken. Nach wenigen Minuten des Selbstüberlassens liegt wieder die rote Kugel am Boden des Reagenzglases. Machen wir nun den Bordetschen Versuch getrennt, indem wir einerseits inaktives Rinderserum, andererseits aktives Pferdeserum mit Meerschweinchenblut digerieren. Wir lassen die Versuchsröhrchen $\frac{1}{2}$ Stunde im Wasserbade stehen und zentrifugieren hinterher intensiv, so sehen wir, daß das Zentrifugat gegen normales Sediment stark verändert ist. Während das normale zentrifugierte Sediment — man muß für diese Versuche Zentrifugenröhrchen von der Gestalt unserer Reagenzgläser anwenden — in feinem, rotem Staub aufwirbelt, werden die mit Rinderserum oder Pferdeserum vorbehandelten Sedimente als rote Membran emporgeschleudert. Wir sehen also, daß sowohl Rinderserum als speziell das aktive Pferdeserum das Meerschweinchenblut stark im Sinne der Agglutination beeinflussen, da auch nach dem Schütteln eine feine Verteilung speziell beim Pferdeserum nicht mehr möglich ist.

Es liegt der Gedankengang nicht fern, daß die auxilitische Kraft des Rinderserums sich darin äußert, daß es die durch die Agglutination erschwerten Verhältnisse dem Komplement zu überwinden hilft. Wir können uns leicht durch ein einfaches Experiment davon überzeugen, welche hemmende Wirkung die Agglutination gegen die Hämolyse ausübt: Wir nehmen das Röhrchen, in dem wir Meerschweinchenblut und inaktives Pferdeserum zentrifugiert hatten, und setzen 0,1 ccm aktives Rinderserum zu. Diesem kommt eine außerordentlich starke toxische Wirkung gegen Meerschweinchenblut zu. Wenn wir das Zentrifugat mit der nötigen Vorsicht aufschütteln, tritt keine komplette Hämolyse ein.

Die Vorsicht beim Schütteln muß allerdings unbedingt gewahrt werden, weil stark agglutinierte Sedimente mechanisch leicht lüdiar sind und so Hämolyse durch Komplementwirkung vortäuschen können.

Meist gelingt es überhaupt nicht mehr, aus dem Sediment eine Suspension zu erzielen. Daß eine solche Konglomerierung der Hämolyse durch Komplementwirkung nicht förderlich sein kann, ist eigentlich selbstverständlich.

So hat dann auch Gengou¹⁾ nachgewiesen, daß die auxilitische Funktion des Serums sich von der agglutinierenden durch Dialyse trennen läßt. Andererseits hat das inaktivierte Meerschweinchenserum auxilitische Wirkung, ohne Agglutination zu bewirken.

Wir sehen also aus dem Angeführten, daß sich kein Grund ergibt, die Bordetsche Auffassung von der Hilfswirkung der Agglutination anzunehmen.

1) Gengou, Centralbl. f. Bakt., Bd. 52.

Der einzige Autor, der die ausgesprochene Vermutung des Antagonismus der Agglutination und der Hämolyse in einer unlängst erschienenen Arbeit beschrieben hat, ist Sormani¹⁾, soweit wenigstens unsere Kenntnis der Literatur reicht. Die Sormanischen Versuche waren für uns um so lehrreicher, als wir die Arbeit erst nach Beendigung unserer Experimente fanden.

Sormani¹⁾ befaßt sich mit der Erklärung des Neisser-Wechsberg'schen Phänomens bei der Hämolyse. Bei seinen Versuchen über die Wassermann'schen Reaktion — Sormani arbeitet mit höheren Ambozeptordosen, als die Originalmethode vorschreibt — fand er, daß man die Zahl der Ambozeptoreinheiten nicht beliebig vergrößern dürfe. Er beobachtete, daß man speziell bei alten Ambozeptoren oder solchen von niedrigem Titer in konzentrierten Dosen ein Ausbleiben der Hämolyse feststellen kann, während stärkere Verdünnungen dieser Ambozeptoren mit der gleichen Komplementmenge hämolysieren.

Sormani stellte nun des weiteren fest, daß längere Zeit sensibilisierte Blutkörperchen sich unter Umständen resistenter verhalten als die nur kurze Zeit sensibilisierten und daß auch dies wieder speziell bei konzentrierteren Ambozeptoren in Erscheinung trat.

Sormani kommt zu dem Schlusse, daß es nicht die Ambozeptorwirkung des hämolytischen Serums ist, welche das Ausbleiben der Hämolyse bewirkt, daß vielmehr das hämolytische Serum die Blutkörperchen in anderer Weise beeinflussen müsse, so, daß sie für die Komplementwirkung ausfallen.

Sormani stellt nun fest, daß auch in den Fällen, wo keine Hämolyse eintrat, das Komplement verschwunden war. Sormani fand das Neisser-Wechsberg'sche Phänomen nun besonders bei solchen hämolytischen Seren, die gleichzeitig stark präzipitierten. Der hämolytische Titer steht dabei in keinem Verhältnis zum präzipitierenden. Durch Injektion von Hammelserum stellte er sich Sera her, die gleichzeitig hämolysierten und präzipitierten. $\frac{1}{2}$ ccm eines solchen Serums macht nun in 15 Minuten 10 ccm einer 5-proz. Hammelblutsuspension völlig unlöslich für die Hämolyse.

Den durch die Präzipitation hervorgerufenen Umwandlungsprozeß der roten Blutkörperchen erklärt der Autor auf der Basis physikalischer Veränderungen an der Oberfläche derselben. Sormani fand, daß stark sensibilisierte Blutkörperchen schon durch Zentrifugieren oder Schütteln hämolysieren. Dieses Phänomen ist bereits von v. Liebermann und von Bail²⁾ beobachtet worden und von beiden Autoren als Schädigung der Zellen durch den Sensibilisierungsprozeß gedeutet worden. Es reicht also bei stark sensibilisiertem Blute eine mechanische Schädigung aus, den Hämoglobinaustritt zu ermöglichen.

1) Sormani, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 24.

2) Bail, Arch. f. Hyg., 1908.

Von Bail wurde diese Erscheinung dahin gedeutet, daß bereits dem Immunkörper die Fähigkeit innewohne, Hämolyse zu verursachen, und daß dem Komplement bei diesem an sich sich langsam vollziehenden Prozesse die Rolle eines Katalysators im Sinne der anorganischen Fermente zufalle.

Sormani vertritt die Ansicht, die auch ich mir ohne Kenntnis seiner Arbeit gebildet hatte, daß durch den Präzipitationsprozeß, resp. die hierbei stets in die Erscheinung tretende Agglutination eine Abnahme der Elastizität der Zellwand statthabe. Sormani meint, daß diese Veränderung mit der Sensibilisierung an sich nichts zu tun habe. Dieser Prozeß vollzieht sich, indem die präzipitogene Substanz an der Oberfläche der Zellen aus dem flüssigen in den festen Aggregatzustand übergeführt wird. Während bei der gewöhnlichen Sensibilisierung die Elastizität erhalten bleibt — v. Liebermann behauptet bekanntlich sogar eine Herabsetzung der osmotischen Widerstandskraft — hat ein jedes hämolytisches Serum ein solches die Elastizität herabsetzendes Vermögen, das im geraden Verhältnis zu seiner präzipitierenden Kraft steht.

Dieses Verhältnis zwischen Zelle und Immunsérum nennt Sormani „spezifische Sprödigkeit“. Die stärksten Konzentrationen des Sérumes führen diesen Zustand der spezifischen Sprödigkeit nicht herbei.

Betrachten wir den abgelaufenen Prozeß unter dem Mikroskope, so finden wir Agglutination, und die Zellen erscheinen verkleinert. Das Neisser-Wechsberg'sche Phänomen läßt sich überall, wo spezifische Sprödigkeit eintritt, bei gut ausgeführtem Experiment nachweisen. Wir sehen hier also einen Prozeß, wo die Präzipitation, wir können

Tabelle III.

Hämolsine gegen Rinderblut, 0,5 ccm 5-proz. Aufschwemmung. Gesamtvolumen 2,5 ccm.

Serummengé	0,05	0,1	0,3	0,5	1,5	
Hammel	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	Hämolyse Konglutination
Schwein	0 0	0 0	0 0	H 0	+++ 0	Hämolyse Konglutination
Pferd	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	Hämolyse Konglutination
Huhn	0 0	0 0	H 0	HH 0	HHH 0	Hämolyse Konglutination
Ente	0 0	0 0	0 0	HH 0	HHH 0	Hämolyse Konglutination
Taube	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	Hämolyse Konglutination
Mensch	0 0	0 0	H 0	HH 0	HHH 0	Hämolyse Konglutination
Meerschweinchen	0 0	H 0	H 0	HH 0	HHH 0	Hämolyse Konglutination

Tabelle IV.

Rinderblutambozeptor vom Kaninchen. Titer 1 : 1000 mit 0,05 Meerschweinchenserum. $\frac{1}{2}$ ccm 5-proz. Aufschwemmung. Gesamtvolumen 2,5 ccm.

Amb.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{160}$	$\frac{1}{320}$	
1. Hammelserum 0,5.							
	0	0	0	0	0	0	Hämolyse
	0	0	0	0	0	0	Konglutination
2. Schweineserum 0,3.							
	HHH	HHH	HHH	HHH	HHH	HH	Hämolyse
	0	0	0	0	0	0	Konglutination
3. Schweineserum 0,1.							
	HH	H	H	H	0	0	Hämolyse
	0	0	0	0	0	0	Konglutination
4. Huhnerum 0,15.							
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	Hämolyse
	0	0	0	0	0	0	Konglutination
5. Rinderserum 0,5.							
	0	0	0	0	0	0	Hämolyse
	0	0	0	0	0	0	Konglutination
6. Entenserum 0,15.							
	HHH	HHH	HHH	HH	0	0	Hämolyse
	0	0	0	0	0	0	Konglutination
7. Taubenserum 0,3.							
	0	0	0	0	0	0	Hämolyse
	0	0	0	0	0	0	Konglutination
8. Pferdeserum 0,5.							
	0	0	0	0	0	0	Hämolyse
	0	0	0	0	0	0	Konglutination
9. Menschenserum 0,1.							
	HH	HH	HH	H	H	H	Hämolyse
	0	0	0	0	0	0	Konglutination

wohl ebenso gut sagen Agglutination, denn das, was Sormani schildert, ist ja der für den zweiten Teil der Agglutination charakteristische Präzipitationsprozeß, als antihämolysisch wirkend erwiesen wird. Wir dürfen wohl also die Bordetsche Hypothese, daß Agglutination die Hämolyse fördert, fallen lassen. Betrachten wir unsere Tabelle über Hammelbluthämolyse von diesem Gesichtspunkte, nämlich daß die Agglutination einen die Hämolyse beeinträchtigenden Prozeß darstellt, so finden wir eine Erklärung dafür, warum auch toxische Komplemente schlecht aktivieren können. Regelmäßig ist der Prozeß begleitet von einer extremen Agglutination. Wir geben hier eine tabellarische Uebersicht über die Verhältnisse bei Rinderblut, Pferdeblut, Meerschweinchenblut mit von Kaninchen gewonnenen Ambozeptoren. (Tabelle III, IV, V, VI, VII, VIII.)

Tabelle V.

Pferdeblut. Gleiche Anordnung wie vorher. Normalhämolysine.

Serummengde	0,1	0,2	0,3	0,5	1,5	
Huhn	HH 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	Hämolyse Konglutination
Ente	HHH 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	Hämolyse Konglutination
Rind	0 +++	0 +++	H ++	H ++	HHH 0	Hämolyse Konglutination
Hammel	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	Hämolyse Konglutination
Schwein	0 0	0 0	H 0	HH 0	HHH 0	Hämolyse Konglutination
Meerschweinchen	0 0	H 0	HH 0	HHH 0	HHH 0	Hämolyse Konglutination
Taube	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	Hämolyse Konglutination
Mensch	0 0	0 0	H 0	HHH 0	HHH 0	Hämolyse Konglutination

Tabelle VI.

Pferdeblutambozeptor von Kaninchen, Titer 1:900, mit 0,05 ccm Meer-
schweinchenkomplement.

Amb.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{160}$	$\frac{1}{320}$	
1. Rinderserum 0,1.							
	H +++	0 +++	0 +++	0 +++	0 +++	0 +++	Hämolyse Konglutination
2. Menschenserum 0,07.							
	HHH 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	Hämolyse Konglutination
3. Schweineserum 0,1.							
	H +++	0 +++	0 +++	0 +++	0 +++	0 +++	Hämolyse Konglutination
4. Pferdeserum 0,5.							
	HHH 0	H +++	0 +++	0 +++	0 +++	0 +++	Hämolyse Konglutination
5. Hammelserum 0,5.							
	0 +++	0 +++	0 +++	0 +++	0 +++	0 +++	Hämolyse Konglutination
6. Entenserum 0,15.							
	HHH 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	Hämolyse Konglutination
7. Taubenserum 0,3.							
	0 +++	0 +++	0 +++	0 +++	0 +++	0 +++	Hämolyse Konglutination

Tabelle VII.
Hämolysine gegen Meerschweinchenblut.

Serummenge	0,1	0,2	0,3	0,5	1,5	
Rind	HHH 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	Hämolysen Konglutination
Schwein	HHH 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	Hämolysen Konglutination
Taube	0 0	0 0	0 0	0 ++	0 +++	Hämolysen Konglutination
Huhn	0 0	H 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	Hämolysen Konglutination
Ente	0 0	H 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	Hämolysen Konglutination
Pferd	0 0	0 0	0 0	H ++	HHH +++	Hämolysen Konglutination
Mensch	H 0	HH 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	Hämolysen Konglutination
Hammel	H 0	HH 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	Hämolysen Konglutination

Tabelle VIII.
Meerschweinchenblutambozeptor vom Kaninchen. Titer 1 : 600.

Amb.	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	
1. Menschenserum 0,07.								
	HHH 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	.	Hämolysen Konglutination
2. Hammelserum 0,075.								
	HHH 0	H +++	H +++	H +++	H +++	H +++	.	Hämolysen Konglutination
3. Entenserum 0,07.								
	+	++	+++	+++	+++	++	.	Hämolysen Konglutination
4. Rinderserum 0,03.								
	+++ 0	+++ 0	+++ 0	+++ 0	+++ 0	+++ 0	.	Hämolysen Konglutination
5. Pferdeserum 0,3.								
	HHH 0	HH +	H ++	0 +++	0 0	0 0	.	Hämolysen Konglutination
6. Meerschweinchenserum 0,1.								
	HHH 0	H ++	0 +++	0 ++	0 +	0 0	.	Hämolysen Konglutination
7. Schweineserum 0,05.								
	HHH 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	.	Hämolysen Konglutination
8. Hühnerserum 0,075.								
	0 +++	HH +	HHH 0	HHH 0	HH 0	H 0	.	Hämolysen Konglutination
9. Taubenserum 0,3.								
	0 +++	0 +++	0 +++	0 +++	0 +++	0 +++	.	Hämolysen Konglutination

Um diesen der Hämolyse entgegenstehenden Prozeß der Agglutination zu überwinden, werden viel größere Serum-mengen gebraucht, nur stark toxische Komplemente zeigen überhaupt Wirksamkeit. Es sei denn, daß die Hämolyse auch in diesem Falle bei sehr hohen Dosen des Immunkörpers und des Komplements eintritt. Höhere Titerwerte werden nur von toxischen Komplementen erzielt, und diese Titerwerte bleiben auch erheblich zurück hinter der maximalen Wirkung des Ambozeptors. Ueberall sehen wir dieselbe Gesetzmäßigkeit. Es liegt mir natürlich fern, behaupten zu wollen, daß eine absolute Symmetrie zwischen Normalhämolyse und Komplement-wirkung bestünde, wir wissen ja, daß dem Auxilysin auch ein erheblicher Einfluß bei der Komplementbindung zugebilligt werden muß. So fällt denn die Tatsache auf, daß nur sehr wenig Komplemente so wirksam sind, daß sie den mit Meerschweinchenserum als Komplement festgestellten Titer erreichen, wobei noch zu berücksichtigen ist, daß das Meerschweinchenserum meist in viel zu hoher Dosis benutzt wurde. Man hat daher nicht mit Unrecht das Meerschweinchenserum das Komplement kat' exochen genannt. Nun sehen wir aus unserer Tabelle, daß das Meerschweinchenserum sich als durchaus minderwertiges Komplement erweist, wenn wir Serum und Blut im hämologen System anwenden, wo es natürlich atoxisch sein muß, speziell wenn wir Blut und Serum vom selben Tier nehmen.

Es war nun für unsere Hypothese von Interesse, ein hämolytisches System anzustellen, wo das Meerschweinchenserum als wenig toxisch betrachtet werden könnte, wo also die normal-hämolytische Kraft des Meerschweinchenserums sich als gering erwies. Ein solches Blut ist das Menschenblut. Die normal-hämolytische Kraft des Meerschweinchenserums ist hier im allgemeinen recht gering.

Das hämolytische System — Menschenblutkörperchen, vom Kaninchen gewonnene Ambozeptoren und Meerschweinchenserum als Komplement — ist in der Serologie nicht unbekannt, da es von Noguchi¹⁾ für die Wassermannsche Reaktion empfohlen wird. Sleeswijk²⁾, der die Noguchische Methode probierte, berichtet bezüglich der Ambozeptoren,

1) Noguchi, Journ. of exp. Medicine, Vol. 13.

2) Sleeswijk, Deutsche med. Wochenschr., 1910.

daß es nicht gelingt, so hochwertige Titer wie bei Hammelblut zu erzielen, weil das Kaninchen „die Antikörper nicht in dem gleichen Maße produziere“. Wie wir später im Original fanden, benutzt Noguchi das hämolytische System anders als bei der Originalmethode. Die Menge von 0,05 Komplement wird beibehalten. Die Blutmenge beträgt 0,1 ccm von einer 10-proz. Lösung. Das Gesamtvolumen des Versuches ist auf 1 ccm festgesetzt. Demnach ist, besonders wenn wir noch die die Hämolysse fördernde Wirkung der Herabsetzung des Volumens berücksichtigen, die angewandte Komplementmenge über noch einmal so stark wie bei der Originalmethode. Ich selbst habe natürlich bei meinen Versuchen dieselben Versuchsbedingungen beibehalten wie bei den anderen Blutuntersuchungen, nämlich 2,5 ccm Gesamtvolumen, $\frac{1}{2}$ ccm 5-proz. Aufschwemmung.

Unter 6 Kaninchen und einem Meerschweinchen, die wir mit Menschenblut intraperitoneal und intravenös mit sehr erheblichen Antigenmengen impften, gelang es uns nicht einmal, mit 0,05 resp. 0,1 Meerschweinchenkomplement eine komplette Hämolysse zu erzielen. Wir sahen wohl erhebliche partielle Hämolysse mit starker Agglutination des Restes eintreten. Die Agglutination ging weit über den hämolytischen Titer hinaus. Mit der von Noguchi angegebenen Methode erhielten wir einen relativ höheren Titer, indem wenigstens die stärksten Konzentrationen komplette Hämolysse zeigten. Wir geben hier eine tabellarische Uebersicht der Wirkung des Menschenblut-ambozeptors (Tabelle IX und X).

Tabelle IX.
Hämolysine gegen Menschenblut.

Serummenge	0,1	0,3	0,5	1,0	1,5	
Meerschweinchen	0 0	0 0	0 0	0 0	+ 0	Hämolysse Konglutination
Rind	0 0	HH 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	Hämolysse Konglutination
Schwein	0 0	0 0	0 0	H 0	HHH 0	Hämolysse Konglutination
Hammel	0 0	HH 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	Hämolysse Konglutination
Huhn	0 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	Hämolysse Konglutination
Ente	0 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	HHH 0	Hämolysse Konglutination
Taube	0 0	0 0	0 0	HH 0	HHH 0	Hämolysse Konglutination

Tabelle X.
Kaninchen-Menschenblutambozeptor.

Amb.	$1/10$	$1/20$	$1/40$	$1/80$	$1/160$	$1/320$	$1/640$	$1/1280$	
1. Ambozeptor ohne Komplement.									
	0	0	0	0	0	0	0	0	Hämolyse
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	Agglutination
2. Meerschweinchenserum 0,05.									
	HH	H	H	0	0	0	0	0	Hämolyse
	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	Kongl. resp. Aggl.
3. Meerschweinchenserum 0,1.									
	HH	HH	HH	HH	0	0	0	0	
	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	
4. Mit Meerschweinchenserum 0,05 in der Anordnung von Noguchi.									
	HHH	HHH	HHH	HHH	HH	H	H	0	Hämolyse
	0	0	0	0	+	++	++	+++	Konglutination
5. Rinderserum 0,2.									
	HHH	HHH	HHH	HH	HH	HH	HH	0	Hämolyse
	0	0	0	+	+	+	+	+++	Konglutination
6. Hammelserum 0,1.									
	H	H	H	H	0	0	0	0	Hämolyse
	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	Konglutination
7. Schweineserum 0,3.									
	HHH	HHH	HHH	HHH	HHH	HHH	HHH	0	Hämolyse
	0	0	0	0	0	0	0	+++	Konglutination
8. Taubenserum 0,3.									
	HH	HH	H	0	0	0	0	0	Hämolyse
	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	Konglutination
9. Hühnerserum 0,1.									
	HH	HH	HH	HH	HH	HH	HH	HH	Hämolyse
	+	+	+	+	+	+	+	+	Konglutination
10. Entenserum 0,1.									
	HH	HH	HH	HH	HH	HH	HH	HH	Hämolyse
	+	+	+	+	+	+	+	+	Konglutination

Wir sehen auch bei diesem Ambozeptor die Gesetzmäßigkeit bestätigt, daß die Toxizität und Komplementfähigkeit eines Serums in einem bestimmten Verhältnis stehen. Das Komplement kat' exochen, das Meerschweinchenserum, ist in diesem Falle ungleich weniger wirksam als beim Hammelblutambozeptor. Wir sehen, daß 0,05 Meerschweinchenserum nur bis zum Titer 1 zu 40 reaktiviert und dieses auch nicht komplett. Wie man leicht nachweisen kann, ist das Komplement über die hämolytische Zone hinaus an das aggluti-

nierte Antigen gebunden, denn der Abguß vermag einen Hammelblutambozeptor nicht mehr zu reaktivieren. Dies wurde nachgewiesen von der Verdünnung 80 bis 320, während die Verdünnung 640 Komplement frei im Abguß enthielt. Alle Immunkörper, welche wir von Kaninchen resp. Meerschweinchen gegen Menschenblut erzielten, zeigten stark agglutinierende Wirksamkeit, die im Falle VII bis zur Verdünnung 1200 reichte. Es wurde also trotz der Anwesenheit von Komplement dasselbe in den höheren Verbindungen des Ambozeptors bei der Agglutination nicht verbraucht.

Wir glauben durch diese Versuche gezeigt zu haben, daß tatsächlich eine Beziehung zwischen der Toxizität des Serums und der Komplementwirkung des Serums besteht, daß andererseits die Agglutination eine dem Endeffekt der Hämolyse entgegengesetzte Erscheinung ist. Es fällt nun auf, daß Hammelserum und Rinder Serum trotz hoher Ambozeptor- und Komplementdosen nicht imstande sind, das homologe Blut zu lösen, während dem Pferdeserum, dem Meerschweinchen Serum, dem Menschen Serum diese Fähigkeit innewohnt. Es ist zwar auch in diesen Fällen bei sehr hohen Ambozeptor- und Komplementdosen erst die Hämolyse möglich, und wir können es wohl als einen Allgemeinbefund betrachten, daß das atoxische homologe Komplement (Blut und Serum vom gleichen Tier) nur unter besonders günstigen Umständen wirksam ist. Wir müßten nun nach Ehrlich annehmen, daß das Rinder- und Hammel Serum kein passendes Komplement besitzen, um einen von Kaninchen gewonnenen Ambozeptor gegen die hämologe Blutart zu reaktivieren. Das wäre durchaus falsch. Da müßten wir auch annehmen, daß ein solches Immunserum, einem Hammel resp. Rinde injiziert, keine Vergiftung hervorrufen würde, und ich glaube, man könnte leicht das Gegenteil beweisen. In der Tat handelt es sich hier um rein quantitative Verhältnisse. Wie wir bereits feststellten und auch bei anderen Seren fanden, ist auch das Immunserum gegen Menschen-, Pferde-, Meerschweinchen-, Kaninchen-, Schweineblut durch das homologe Komplement nicht in ähnlicher Weise reaktivierbar, wie etwa ein Hammelblutambozeptor durch Meerschweinchenkomplement. Zur Reaktivierung eines gegen eine Blutart gerichteten Ambozeptors durch das dieser Blutart homologe Serum sind

stets große Dosen des Ambozeptors, meist auch des Komplements notwendig.

In der Tat kann man sich auch leicht davon überzeugen, daß auch das Rinder- resp. Hammelserum imstande ist, im homologen System zu reaktivieren. Man nimmt etwa 10 ccm frischen Hammel- oder Rinderserums und tut 1 ccm eines stark wirksamen Immunkörpers, desgleichen eine geringe Menge des gewaschenen Blutes hinzu. Die Hämolyse tritt fast spontan ein.

Die Hämolyse des Blutes durch das homologe Serum ist stets von einer starken Agglutination begleitet. Während es nun in diesen Fällen gelingt, nachzuweisen, daß das passende Komplement sehr wohl vorhanden ist, gelingt dies in einigen Fällen selbst bei höchster Dosierung nicht. So beispielsweise löst Hammelserum trotz höchster Dosen Ambozeptor und Komplement Rinderblut nicht auf. Es scheint mir nach dem Geschilderten zweifelhaft zu sein, ob der Schluß berechtigt ist, daß das Hammelserum in diesem Falle kein passendes Komplement besitzt. Auch hier ist der Prozeß begleitet von einer extremen Agglutination. Wir wissen ja nicht, wie sich die Agglutination im strömenden Blut abspielt. Sicherlich nicht so extrem, wie im Reagenzglas. Hier ist die ungehinderte Möglichkeit des Zusammenballens gegeben, dort wirkt der Blutstrom, der die Teilchen voneinander zu entfernen geeignet ist und die Reibung an der Gefäßwand dem Phänomen entgegen.

Es ist also sehr wohl möglich, daß auch das Hammelserum passendes Komplement besitzt, nur unsere Reagenzglasbedingungen sind vielleicht daran schuld, daß die Hämolyse nicht sichtbar wird.

Bordet sieht in dem Immunkörper nur einen Hilfskörper, demnach müßte jeder Kreislauf ein Ferment bergen, das zelllösend zu wirken vermag. Ein solches Ferment wäre es vermutlich, welches bei der tatsächlich bestehenden Stabilität der Zellzahl in den Geweben die Rolle zu übernehmen hätte, Schadhaftes zu eliminieren und Zuviel gebildetes zu vernichten. Man könnte annehmen, daß unter physiologischen Verhältnissen das Ferment ohne Hilfskörper funktioniert, während unter pathologischen eine Hilfskörperwirkung notwendig ist, wie wir dies bei der paroxysmalen Hämoglobinurie sehen. Von einem

wirklichen Erkennen des Zusammenhanges dieser Fragen des Zellebens sind wir allerdings noch weit entfernt.

Wir sind in der Lage, noch einige Beispiele zu demonstrieren, welche den Einfluß der Toxizität des Komplementes dartun.

Das erste betrifft die Kombination inaktives Rinderserum, aktives Pferdeserum und Meerschweinchenblut. Wie bereits erwähnt, tritt, wenn das mit inaktivem Rinderserum sensibilisierte Meerschweinchenblut nach Entfernung des Rinderserums, mit Pferdekompement digeriert wird, keine Hämolyse ein. Andererseits wird das Meerschweinchenblut gelöst wenn das inaktive Rinderserum gleichzeitig mit dem Pferdekompement zugesetzt wird. Nach unserer Meinung wird auch dies veränderte Verhalten durch die Agglutinationsverhältnisse erklärt. Daß das mit inaktivem Rinderserum vorbehandelte Blut stark verändert ist, davon kann man sich leicht überzeugen. Das aktive Pferdeserum wirkt ebenfalls stark agglutinierend. Rinderserum und Pferdeserum stehen bekanntlich an der Spitze der Bürgischen Reihe als stärkst agglutinierende Seren. Das Pferdeserum ist andererseits sehr wenig toxisch für Meerschweinchenblut. Es kostet nach dem Vorangegangenen wenig Mühe, sich eine Vorstellung davon zu machen, weshalb das sensibilisierte Blut sich in diesem Falle nicht löst. Es liegen hier dieselben Verhältnisse vor, wie sie Sormani beschrieben hat. Die auxilitische Kraft des Rinderserums hebt die schwachtoxische Kraft des Pferdekompements. Nun hat uns der Zufall zweimal den Vorgang abweichend gezeigt. Bei Zusatz von Pferdeserum wurde das mit inaktivem Rinderserum vorbehandelte und gewaschene Meerschweinchenblut glatt gelöst. Als wir nun die hämolytische Kraft dieses Pferdeserums prüften, zeigte sich, daß dieses Pferdeserum stark toxisch war. Während im allgemeinen 1,5 ccm bis 2 ccm Pferdeserum 1 ccm 5-proz. Meerschweinchenblutaufschwemmung unverändert lassen, zeigte dieses Serum schon bei 0,5 ccm deutlich Hämolyse. Die zugesetzte Dosis von 0,3 ccm war noch ohne hämolytische Wirkung. Wir sehen hier deutlich den Einfluß der Toxizität des Komplements. Wurde derselbe Versuch mit anderem Pferdeserum angesetzt, so blieb die Hämolyse aus. Dieses Experiment beweist gleichzeitig in einfachster Form,

daß die Meerschweinchenblutkörperchen durch das inaktive Rinder Serum sensibilisiert werden.

Ein zweites Beispiel ist die Zunahme der Kraft des Homologenkomplements, wenn das Serum des Tieres Isolysine gegen die Blutkörperchen besitzt.

Wir zeigen hier nebenstehend die Wirkung von atoxischem Hammelkomplement und von Hammel Serum, das bei Anwendung von 1 ccm die 5-proz. Hammelblutaufschwemmung deutlich zu lösen begann. Bei 0,5 ccm war isolytische Wirkung noch nicht nachweisbar.

Amb.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{160}$	$\frac{1}{320}$	
Mit 0,5 Hammel Serum (atoxisch) vom selben Tier							
0	0	0	0	0	0	0	Hämolyse
+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	Konglutination
Mit 0,5 isolytischem Hammel Serum							
HHH	HHH	HHH	HH	H	0	0	Hämolyse
0	0	0	0	0	0	0	Konglutination

Dasselbe sehen wir bei isolytischem Pferdekompement.

Amb.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{160}$	$\frac{1}{320}$	
Mit 0,5 atoxischem Pferdeserum							
HHH	H	0	0	0	0	0	Hämolyse
0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	Konglutination
Mit 0,5 isolytischem Pferdeserum							
HHH	HHH	HHH	HHH	HH	HH		Hämolyse
0	0	0	0	+	+		Konglutination

Auf dem Phänomen der Agglutination beruht vermutlich auch die stark antikomplementäre Wirkung mancher Sera. Nehmen wir beispielsweise Schweineserum, welches Hammelblut in 5-proz. Aufschwemmung bereits in sehr niedrigen Dosen löst, beispielsweise 0,1, und setzen geringe Mengen aktiven Rinder Serums dazu, so tritt keine Hämolyse ein, sondern Konglutination.

Ehrlich¹⁾ fand, daß ein Ambozeptor, welcher von der Gans gegen Rinderblut gewonnen war, sich anders verhielt, als ein solcher, der vom Kaninchen stammte. Wenn wir die Tabelle durchsehen, so finden wir, daß Taubenkomplement den von der Gans gewonnenen Ambozeptor reaktivierte, den vom Kaninchen gewonnenen nicht. Angaben über die angewandten Mengen des Komplementes fehlen. Desgleichen ist nicht er-

1) Ehrlich, Berl. klin. Wochenschr., 1909.

sichtlich, ob das Komplement für beide Versuchsreihen vom selben Tier genommen wurde. Eine ähnliche Angabe finden wir bei Muir, bei dessen Versuchen ein Entenambozeptor gegen Rinderblut sich anders verhielt als ein Kaninchenambozeptor, insofern, als Taubenkomplement sich bei dem Vogelblutambozeptor als aktiv zeigte. Bei Muir fehlen Angaben über die Stärke des Ambozeptors. Noguchi hat vergleichende Versuche mit Ambozeptoren verschiedener Herkunft gegen Menschenblut gemacht und fand Hühnerkomplement in einem Falle aktiv bei einem vom Huhn gewonnenen Ambozeptor, wo andere Komplemente versagten. Noguchi hat nun wieder stets die gleiche Menge Komplemente angewandt, so daß auch diese Versuchsanordnung nicht als vollkommen anerkannt werden kann. Aus allen drei Tabellen geht jedenfalls hervor, daß im allgemeinen die Herkunft des Ambozeptors von untergeordneter Bedeutung zu sein scheint. Im allgemeinen zeigten sich dieselben Sera wirklich als Komplement, bzw. unwirksam. Diese Beobachtung können wir durchaus bestätigen. Wir haben in Anbetracht der hohen Geflügelpreise nur Tauben als Versuchstiere benützen können.

4 Tauben wurden in Intervallen von 5 Tagen intraperitoneal geimpft mit $1\frac{1}{2}$ ccm gewaschenem Hammel-, Rinder-, Meerschweinchen- und Hühnerblut. Die Antikörperbildung ist bei der intraperitonealen Impfung stets geringer als bei intravenöser Einverleibung des Antigens. Die Impfung wurde dreimal vorgenommen. Der Hammelblutambozeptor zeigte einen Titer von 1:120 mit Meerschweinchenkomplement 0,05. Die vierfache Ambozeptordosis wurde genau so wie ein Kaninchenambozeptor durch 0,01 Meerschweinchenkomplement reaktiviert. Genau so verhielt sich der Rinderblutambozeptor, welcher einen Titer von 1:80 hatte bei Anwendung von 0,05 Meerschweinchenkomplement. Derselbe wurde ebenfalls in der vierfachen Ambozeptordosis durch 0,015 Meerschweinchenblut reaktiviert und verhielt sich genau so wie ein zum Vergleich mit demselben Komplement herangezogener Kaninchenambozeptor. Der Meerschweinchenblutambozeptor zeigte bloß einen Titer von 1:140 mit 0,03 Rinderserum. Es ist nicht zugänglich, wie dies die Untersuchungen Sormanis beweisen, Ambozeptoren mit sehr verschiedenen Titergraden einander gleichzustellen. Die präzipitierende Kraft der Ambozeptoren mit niedrigem Titer ist verhältnismäßig eine viel höhere, je schwächer der Ambozeptor ist, desto leichter wird das eine oder andere Komplement ganz versagen, da ja auch zwischen den Komplementen, die sich offenbar zur Reaktivierung eigenen bei stark wirkenden Ambozeptoren erhebliche Unterschiede in der Titerhöhe zu beobachten sind.

Trotz der großen Differenz in der Aktivität zwischen den Kaninchen- und Taubenambozeptoren haben wir keine nennenswerten Verschiedenheiten der Komplementwirkung beobachten können. Die toxischen Komplemente, die die Kaninchenambozeptoren reaktivieren, erwiesen sich auch den Taubenambozeptoren gegenüber als wirksam. Daß beispielsweise 0,1 Entenserum den Kaninchenambozeptor gegen Meerschweinchenblut reaktivierte, den Taubenambozeptor nicht, kann unschwer erklärt werden, denn Entenserum von 0,1 gab auch nur einen Titer von 320 mit dem Kaninchenambozeptor, Rinderserum 0,03 = 700. In keinem Falle sahen wir, daß ein Komplement, welches gegen den Kaninchenambozeptor unwirksam war, bei den Taubenambozeptoren sich als wirkungsfähig erwies. Die Taube, welche mit Hühnerblut geimpft war, zeigte überhaupt keine nachweisbare Antikörperbildung.

Muir erklärt die Differenzen, die sich bei Ambozeptoren verschiedener Provenienz zeigen, mit einer Toxizität, die dem Immunkörper an sich innewohne, und nähert sich der Bailschen Auffassung, der den Immunkörper als das wirksame Prinzip auffaßt. Wir glauben bestimmt, daß auch hierbei die Agglutinationsverhältnisse von entscheidender Bedeutung sind. Im allgemeinen geben die gegen Blutarten gewonnenen Ambozeptoren nur in konzentrierten Dosen Agglutination. Woher dieses abweichende Verhalten gegenüber der Immunisierung mit bakteriellen Antigenen kommt, ist unbekannt. Weshalb gerade der vom Kaninchen und Meerschweinchen gewonnene Immunkörper gegen Menschenblut so stark agglutiniert, dafür hat die Beobachtung Anhaltspunkte nicht ergeben. Ebenso wenig wissen wir, weshalb der Zusatz des einen Komplements eine starke Agglutination auslöst, während ein anderes keine Agglutination verursacht. Vermutlich handelt es sich um Präzipitationsvorgänge aus unbekannter Ursache.

Von Bedeutung ist die Frage, ob bei der Wassermannschen Reaktion der antikomplementären Wirkung der Agglutination eine Bedeutung zukommt. Im allgemeinen sieht man bei den stark positiven Ausfällen der Wassermannschen Reaktion keine konglutinierten Sedimente. Doch haben wir dies gelegentlich beobachtet. Ob diesen Fällen eine unterschiedliche Bedeutung zukommt, dürfte festzustellen von Interesse sein. Interessant in dieser Beziehung ist die Untersuchung von Tierseren. Das inaktive Rinderserum und Pferdeserum gibt bei der originären Wassermannschen Reaktion eine schwach positive bis negative Reaktion. Die aktiven Seren sind außerordentlich stark positiv, wobei allerdings zu bemerken

st, daß auch die Kontrollen vollkommen ungelöst bleiben. In diesen Sedimenten ist das Phänomen der Konglutination deutlich entwickelt.

Studien mit homologem Komplemente schienen geeignet zu sein, unsere Kenntnisse bezüglich der Mittel- und Endstückfunktionen zu vertiefen. Da das Mittelstück von dem Antigen gebunden wird, so müßte, wenn Blut und Komplement vom selben Tiere stammen, den positiven Ausfall der Reaktion vorausgesetzt, im Blutserum eine Komplementkomponente vorhanden sein, die von dem eigenen Blute gebunden werden kann. Leider gelingt diese Feststellung nicht, weil bei den hohen Ambozeptordosen, die angewandt werden müssen, eine sehr erhebliche Agglutination der Blutkörperchen eintritt. Es ist daher nicht festzustellen, ob die tatsächlich ausbleibende Persensibilisierung dem Agglutinationsphänomen oder dem abweichenden Verhalten des homologen Komplements zuzuschreiben ist.

Wir müssen uns einer Erscheinung zuwenden, die nach meiner Meinung in Beziehung zur Sensibilisierung und Agglutination steht. Wie bereits erwähnt, werden durch das Zentrifugieren Veränderungen der Blutkörperchen erzeugt. Das normale Blut bleibt durch diesen Akt vollständig unverändert. Das normale Sediment läßt sich leicht aufschütteln, und die Blutkörperchen bleiben so lange in Suspension, bis die langsam wirkende Schwerkraft das Sediment wiederherstellt.

Wie bereits erwähnt, verhält sich das Zentrifugat von Meerschweinchenblutsuspension, die mit aktivem Pferdeserum oder inaktivem Rinderserum vorbehandelt war, vollkommen anders. In einer guten elektrischen Zentrifuge bei stärkster Umdrehung in einem unten abgerundeten Zentrifugenröhrchen etwa 20 Minuten ausgeschleudert, sehen wir das Zentrifugatsediment in eine rote, nur schwer lösliche Masse vereinigt. Während nun beim Rinderserum eine wenn auch deutlich agglutinierte, Suspension herstellbar ist, so ist der Kontakt der Blutkörperchen bei aktivem Pferdeserum so stark, daß eine Verteilung der Masse nur unvollkommen gelingt. Bei stärkerem Schütteln tritt spontane Hämolyse ein.

Die Literatur gibt nur wenige Beobachtungen über die Veränderungen des Zentrifugates.

Als erster dürfte sich Bordet¹⁾ mit dieser Frage beschäftigt haben; nach ihm tritt, wenn wir das durch Zentrifugieren erhaltene Sediment agglutinierten Bakterien in destilliertem Wasser aufschwemmen, keine Agglutination ein. Veränderungen des stark sensibilisierten Blutes durch mechanische Einwirkung wurde zuerst von v. Liebermann festgestellt. Wird stark sensibilisiertes Blut geschüttelt, so tritt spontan Hämolyse ein. Diese von Bail dem Anschein nach unabhängig gemachte Beobachtung dient diesem zur Begründung seiner Theorie, daß bereits der Immunkörper imstande sei, den Endeffekt der Hämolyse zu erzielen, und daß dem Komplemente nur die Rolle eines Katalysators zukomme. Dem Anschein nach ebenfalls ohne Vorkenntnis dieser Beobachtungen hat Sormani bei seinen bereits teilweise zitierten Experimenten über den Einfluß der Präzipitation auf die Hämolyse diese Erscheinung ebenfalls gesehen. Auch mir sind diese mechanischen Veränderungen ohne Vorkenntnis der Literatur aufgefallen. Sormani ist also der Meinung, daß durch den bei der Agglutination auftretenden Präzipitationsvorgang eine Oberflächenveränderung der roten Blutkörperchen eintritt, in dem Sinne, daß die Sprödigkeit derselben zunimmt, infolge Zunahme der Wanddichte. Die Zunahme der Dichte, also die Abnahme der Elastizität, ist der Grund, weshalb die Blutkörperchen spontaner Gewalt gegenüber weniger widerstandsfähig sind. Daher tritt beim Schütteln der Blutkörperchen und beim Zentrifugieren, offenbar infolge Ruptur der Hülle, Hämolyse ein. Sormani führt den Vorgang darauf zurück, daß bei der Präzipitation das an der Außenfläche der roten Blutkörperchen sich bildende Präzipitinogen aus dem flüssigen in den festen Aggregatzustand übergeht. Sormani zitiert einen ad hoc von Bordet gemachten treffenden Vergleich. Die Geschmeidigkeit der Wand des unveränderten Blutkörperchens vergleicht er mit der eines sehr dünnen Glasfadens, der auch bei starker Biegung nicht zerbricht. Die Sprödigkeit der veränderten Wand setzt er in Parallele mit der Konsistenz eines Deckgläschens. Die Beziehungen der Sensibilisierung zu der Agglutination sind noch viel bestritten. Eine Reihe von Autoren sieht jedenfalls in der Sensibilisierung eine Schädigung der Blutkörperchen. So fanden v. Liebermann und v. Fenyvessy die osmotische Widerstandskraft der sensibilisierten Blutkörperchen herabgesetzt, die der agglutinierten erhöht. Ein äquivalentes Verhalten stellten sie bei der Saponinhämolyse fest²⁾. Trotz Widerspruchs bleiben die Autoren auf ihrem Standpunkte stehen. Bordet nimmt für beide Vorgänge Veränderungen der Oberflächenspannung an. Nach ihm sind die sensibilisierten Blutkörperchen geschwollen (gonflent). Sormani fand die stark agglutinierten Zellen verkleinert.

Kehren wir zu unserer Versuchsreihe zurück, so ist also durch den Kontakt mit dem Serum eine starke Veränderung in der Oberflächenadhäsion der Blutkörperchen eingetreten. Wir wissen nun, daß die Agglutination durch

1) Bordet, Annal. de l'Inst. Pasteur, 1895.

2) v. Liebermann u. Fenyvessy, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 10.

Zentrifugieren beschleunigt wird, und es liegt nahe, diese Erscheinung mit der Agglutination in Verbindung zu bringen. Es genügt nun aber ein minimaler Kontakt mit dem Serum, um diese Erscheinung hervorzurufen. In der Tat ist ja das Rinderserum ein stark agglutinierendes. Wir wissen durch die Forschungsergebnisse Bürgis¹⁾, daß die agglutinierende Kraft normaler Sera verschieden ist. Am stärksten agglutinieren Pferd und Rind, am schwächsten Mensch und Meerschweinchen. Wenn wir nun ein solches schwach agglutinierendes Serum nehmen, beispielsweise Menschenserum, 2 ccm, sorgfältig inaktiviert, und setzen eine ganz beliebige Blutart zu, beispielsweise Rinder-, Pferde- oder Hammelblut, und zentrifugieren, so tritt wieder dasselbe Phänomen auf. Welches Serum und welches Blut wir nehmen, stets tritt, mit ganz geringen Ausnahmen, diese Erscheinung ein. Die Blutkörperchen sind also durch den Kontakt mit dem Serum an ihrer Oberfläche deutlich verändert, ihre Adhäsionskraft ist verstärkt. Es scheint dies ein ganz allgemeiner Prozeß zu sein. Da nun in einer ganzen Reihe von Fällen dieses Phänomen auftritt, ohne daß mikroskopisch oder mit dem bloßen Auge Agglutination wahrnehmbar ist, selbst nach langem Digerieren des Serums mit der Blutart, scheint es unmöglich, diesen Prozeß allein durch die Agglutination zu erklären. Man müßte sonst annehmen, daß die Agglutination ein bei der Digestion des Serums mit Blut unvermeidlich auftretendes Phänomen darstellt.

Das Phänomen tritt auch auf, wenn wir artgleiches Serum benutzen (2 ccm Menschenserum inaktiv, 1 ccm homologe Aufschwemmung). Es ist bekannt, daß die Hammelblutambozeptoren, die wir benutzen, im allgemeinen nachweisbar nur bei konzentrierten Dosen agglutinieren. Eine Sensibilisierung, wie wir sie für die Wassermannsche Reaktion benutzen, unterscheidet sich sichtbar nicht von einer 2 $\frac{1}{2}$ -proz. Aufschwemmung. Die sensibilisierte Aufschwemmung zeigt noch nach vielen Stunden kein Zeichen der Agglutination. Der Senkungsprozeß vollzieht sich bei dem sensibilisierten wie bei den nicht sensibilisierten innerhalb derselben Zeit. Nehmen wir aber eine einfache Sensibilisierung und zentrifugieren die-

1) Bürgi, Arch. f. Hyg., 1907.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. XXVII.

selbe, so sehen wir an der Art, wie sich das Sediment aufschüttelt, daß auch hier sicher eine Veränderung der Oberfläche stattgefunden hat. Wenn auch hier der Zusammenhang der einzelnen Teile nicht immer so evident ist wie bei den vorher geschilderten Versuchen, so ist der Unterschied doch so deutlich gegen eine Kontrolle, daß über das Bestehen dieser Veränderung kein Zweifel walten kann. In der Mehrzahl der Fälle oder zum mindesten sehr häufig zeigt sich die Oberflächenveränderung in genau derselben Weise wie bei der Serumdigestion. Es scheint mir demnach nicht zweifelhaft zu sein, daß diese Erscheinung ein Ausdruck der durch die Sensibilisierung hervorgerufenen Oberflächenveränderung ist. Dieselbe Oberflächenveränderung besteht naturgemäß bei den Substraten, bei denen außer Sensibilisierung auch Agglutination beobachtet wird.

Wir haben nach den Forschungen von Bordet und Kraus die Agglutination als einen zweiphasigen Prozeß aufzufassen. Die erste Phase stellt den eigentlich spezifischen Akt dar, während die zweite durch Präzipitations- resp. Koagulationsvorgänge zu erklären ist.

Durch Loewit¹⁾, dessen Beobachtungen wir durchaus beipflichten, ist es als erwiesen zu betrachten, daß im Agglutinat zwischen den Zellen sich eine färbbare Masse befindet. Wir haben sie speziell bei Konglutinaten beobachtet.

Wir haben uns in zahlreichen mikroskopischen Untersuchungen, speziell mit Dunkelfeldbeleuchtung, davon überzeugt, daß die sensibilisierten Zellen geschwollen sind, die konglutinierten deutlich verkleinert sind. Außerdem ist ein Farbenunterschied wahrnehmbar. Das sensibilisierte Blut ist gelb, das konglutinierte Blut hat einen kupfrigen Ton. Wir haben nun eine merkwürdige Beobachtung gemacht, die uns sehr überraschte. „Das konglutinierte Blut löst sich nicht in destilliertem Wasser“! Machen wir folgenden Versuch: Wir bringen stark sensibilisiertes Hammelblut mit etwa 0,5 frischem Rinderserum zusammen. Der Erfolg ist eine extrem starke Agglutination. Nach Ablauf von einigen Stunden befindet sich am Boden des Reagenzglases ein rotes

1) Centralbl. f. Bakt., Bd. 34.

Kügelchen, das vom Hin- und Herschleudern nicht verändert wird. Uebertrage ich dieses Kügelchen in destilliertes Wasser, so tritt keine Hämolyse ein, auch wenn wir stark schütteln. Das Blut ist also in einen unlöslichen Zustand übergeführt worden. Wir möchten diese Erscheinung ebenso wie Sormani in Zusammenhang mit Präzipitationsvorgängen bringen, wobei wir allerdings glauben, daß der Zelle beim Ablauf dieses Vorganges eine aktive Beteiligung zukommt. Daß übrigens die Koagulation die Hämolyse verhindert, ist ein Vorgang, den wir häufig sehen. Das frisch geronnene Blut gibt auch den Blutfarbstoff an Wasser nicht ab. Wir sehen das ja in unseren Instrumentenschalen, wo Blutfetzen im Wasser herumschwimmen, ohne daß sich die Flüssigkeit rot färbt. Erst mit dem Eintritt der Gerinnung tritt der Blutfarbstoff aus. Es liegt nun nahe, diese geschilderten Erscheinungen in Zusammenhang zu bringen. Wir sehen bei der Sensibilisierung eine Oberflächenveränderung nachweisbar, welche mit Veränderung des Gesamtvolumens im Sinne der Vergrößerung statt hat, bei der Agglutination das Gegenteil, Verkleinerung des Volumens. Es scheint uns, daß die Sensibilisierung ein Anfangsstadium, die Agglutination oder besser die Konglutination — denn der Endeffekt der Agglutination ist offenbar erst bei Anwesenheit von aktivem Serum erreicht — den Endprozeß darstellt. Wir müssen bei diesem Prozeß im Auge haben, daß es sich um die Reaktion von Zellindividuen handelt. Wir wissen, daß die Erythrocyten der Vertebraten durch den Kern sich als vollwertige Zellen ausweisen, ausgenommen sind nur die roten Blutkörperchen der Säugetiere. Bei den Verteidigungsmöglichkeiten der Zelle gegen feindliche Einflüsse spielt ja die Membran eine vorwiegende Rolle, desgleichen Sekretionsvorgänge. Diese Tatsache ist bekannt aus der Biologie der Protozoen. Wir möchten annehmen, daß bei der spezifischen Absorption des Immunkörpers, dem Prozeß, den wir Sensibilisierung zu nennen gewohnt sind, sich eine Veränderung der Zellmembran im Sinne einer erhöhten Porosität, also verminderten Dichtigkeit, geltend macht, die zugleich mit einer Art Lähmung der Zellwand verbunden ist. Der endgültige Zweck dieser Zellbewegung scheint die Dichtigkeitsvermehrung zu sein, die der Zelle, wie wir sahen, Schutz verleiht,

so daß sie sogar gegen schwerste hämolytische Schädigungen wie Wasser geschützt ist. Wieweit an diesem Prozesse die Eigensubstanz der Zelle beteiligt ist, wieweit es sich um Umwandlungen auf dem Wege der Präzipitation handelt, darüber läßt sich natürlich nichts sagen. Das Phänomen der Konglutination soll wenigstens, wie berichtet wird, durch hochgradig verdünntes Rizin¹⁾ ausgelöst werden können. Wir denken bei dem Ablauf des Vorganges uns ein ähnliches Verhalten wie bei dem Spiel der Gefäßerweiterer und -verengerer, die auf thermische Reize erst mit Erweiterung, dann mit Verengerung antworten. Der Zustand, den wir Sensibilisierung nennen, würde demnach den optimalen Dichtigkeitsgrad der Zellwand für den Eintritt der Komplementwirkung bedeuten. Wie wir gesehen hatten, ist der Bedarf an Komplement bei Prozessen, die mit Konglutination einhergehen, ein außerordentlich großer, so daß man auf die Vermutung kommt, daß hier zeitliche Verhältnisse eine Rolle spielen. Ganz zweifelsohne ist ja auch das Komplement an dem Endeffekt, nämlich dem Zustand der Impermeabilität, beteiligt. Die Frage wäre nun nur noch zu lösen, weshalb der Zustand der Sensibilisierung ein stabiler ist. Wenn wir auch aus den Sormanischen Versuchen wissen, daß die Dichtigkeit bei länger dauernder Sensibilisierung zunimmt, so scheint diese Dichtkeitszunahme im allgemeinen doch eine geringe zu sein, denn sensibilisierte Blutkörperchen fallen der Wirkung des Komplements noch nach Tagen anheim. Man müßte annehmen, daß durch die Absorption gleichzeitig eine Art Lähmung der zusammenziehenden Kraft entstanden ist und daß die endgültige Konstriktion erst erfolgt unter der Einwirkung des Komplements, wobei gleichzeitig das Hämoglobin ausgepreßt wird. Denn eine Hämolyse ohne nachweisbare Agglutination findet wohl nie statt. Man kann stets nachweisen, daß die hämolysierten Stromata sich im Zustande höchster Agglutination befinden. Wir sind hier zu Hypothesen gelangt, zu denen andere Untersucher auf anderen Wegen geführt wurden. Es sind dies speziell die von v. Liebermann und von v. Fenyvessy gemachten Beobachtungen, die die Frage der Agglu-

1) Mießner, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2.

tion und Hämolyse von chemischen Gesichtspunkten aus studierten.

So sagt v. Liebermann nach seinen Rizinstudien, daß daraus zur Evidenz hervorgehe, daß hier Hämagglutination und Hämolyse, durch ein und dieselbe Substanz bedingt, nur zwei Stadien derselben Reaktion darstellen. Es ist bekannt, daß v. Liebermann die Immunkörperwirkung als die Wirkung einer schwachen Säure auffaßt. Das Hämoglobin stellt ebenfalls eine schwache Säure dar, welche mit dem Stroma des Blutkörperchens als Base eine salzartige Verbindung darstellt. Es muß daher sowohl bei Einwirkung von stärkeren Säuren und als auch Basen das Hämoglobin aus der Stromaverbindung frei werden. Nun erfolgt die Hämolyse bei Zusatz von Alkali erheblich langsamer als bei Zusatz von Säuren. Diese Erscheinung erklärt v. Liebermann in folgender Weise: Es kann sein, daß das Alkali, welches eiweißartige Körper zum Quellen bringt, auch an der Oberfläche der Blutkörperchen eine solche Wirkung entfaltet, und daß die so entstandene gequollene Hülle ein tieferes Eindringen des Alkali verhindert oder nur langsam gestattet, so daß sich das Entstehen der neuen Verbindung mehr auf die Oberfläche beschränkt. Die Folge wäre ein wesentlich geringeres Maß der Blutkörperchenzersetzung und Verringerung der Menge des in Lösung gehenden Hämoglobins. Nach v. Liebermann gibt es ferner keine Agglutination ohne folgende Hämolyse. Wo dies so zu sein scheint, handelt es sich um eine Täuschung. Mechanische Ursachen verhindern hier das Sichtbarwerden des chemisch frei gewordenen Hämoglobins. Durch Schütteln agglutiniierter Massen kann man nachweisen, daß das Hämoglobin chemisch frei ist und durch die lädierte Hülle durchtritt.

Diese Vorstellungen weichen allerdings ab von der Auffassung, die Sormani und ich von dem Vorgang haben und der durch den Bordetschen Vergleich so charakteristisch ausgesprochen ist. Aber ich möchte glauben, daß das chemische Freiwerden des Hämoglobins aus der Stromaverbindung auch hier die Vorbedingung des Endeffektes der Hämolyse ist. Wir möchten daher in den Fällen, wo es zur Komplementbindung ohne Hämolyse kommt, annehmen, daß sich der chemische Umwandlungsprozeß des Hämoglobins genau so vollzieht, wie wenn es zum Eintritt der Hämolyse kommt. Der chemische Prozeß vollzieht sich hier nur intracellulär, und vermutlich ist unter Einwirkung des Komplements die Zelle impermeabel geworden, bevor der Hämoglobinaustritt erfolgen konnte. Es tritt aus, sowie die Hülle bricht. Denn es befindet sich innerhalb der Zelle in chemisch freiem Zustande.

Wir möchten zum Schluß noch eine Beobachtung mitteilen die dieser Art noch nicht gemacht worden zu sein scheint.

Es handelt sich um ein Immunserum, welches durch starke Antigendosen von Hammelblut intravenös vom Kaninchen erzielt wurde. Das Serum hatte bei der Gewinnung nach der Inaktivierung, die sehr sorgfältig vorgenommen wurde, einen Titer von $\frac{1}{20000}$. Das Serum war einige Wochen bei gewöhnlicher Eisschranktemperatur aufbewahrt worden und stand dann 2 Monate in der Kühlhalle im Schlachthaus bei $+ 2^{\circ} \text{C}$. Der Titer des Ambozeptors war inzwischen auf $\frac{1}{5000}$ gesunken. Dieses Serum gab in der Verdünnung von 1 : 9 eine komplette Lösung eingeführter Hammelblutkörperchen ohne Zusatz von Komplement, etwas niedrigere Dosen verursachten nur starke Agglutination. Ich habe das Serum auch Herrn Prof. Sachs geschickt, der so freundlich war, mir diesen Befund zu bestätigen, obwohl auf dem Transporte im heißen Sommer der Titer gesunken war. Dieser Befund ist geeignet, eine Beobachtung von Sormani zu erklären. Im unverdünnten Ambozeptor konnte er spezifische Sprödigkeit nicht nachweisen. Der Befund unseres Serums zeigt, daß im Serum hämotoxische Substanzen vorkommen können. Dieser Befund würde auch die Bailsche Hypothese stützen.

Zusammenfassung.

Es wird im Anschluß an die herrschenden Theorien versucht, eine Definition des Begriffes „Komplementtoxizität“ zu geben. Es wird versucht, nachzuweisen, daß die Komplementtoxizität schon in der normalhämolysischen Kraft des Serums zum Ausdruck kommt. Bleibt bei toxischen Komplementen die Hämolysen aus, so tritt Komplementbindung ohne Hämolysen ein. Diese ist begleitet von einer extremen Agglutination. Es wird versucht, nachzuweisen, daß diese extreme Agglutination (Konglutination) ein der Hämolysen antagonistisch entgegengesetzter Faktor ist.

(G. C.)

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institute für experimentelle Pathologie der k. k.
Universität Innsbruck.]

Der akute anaphylaktische Shock beim Meerschweinchen.

Von **M. Loewit.**

Mit 12 Figuren im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 3. Mai 1918.)

Mit dem mächtigen Anschwellen der anaphylaktischen Literatur in den letzten Jahren hat die Erkenntnis des anaphylaktischen Prozesses nicht gleichen Schritt gehalten. Selbst bei dem für diesen Prozeß empfindlichsten Versuchstier, dem Meerschweinchen, wird eine so große Anzahl von shock-auslösenden Substanzen und ein so mannigfaltiges und wechselndes Symptomenbild als zur Anaphylaxie gehörig angeführt, andererseits werden aber auch so ganz unbestimmte und wenig charakteristische Erscheinungen, wie Muskelkrämpfe, Sträuben der Haare, Dyspnoë, als ausschlaggebend für die Diagnose angegeben, daß entweder die Vermutung einer großen Mannigfaltigkeit und Unbeständigkeit des anaphylaktischen Symptomenkomplexes gefolgert, oder aber die Vermutung nicht von der Hand gewiesen werden könnte, daß manche Prozesse der Anaphylaxie zugerechnet werden, die in ihren Erscheinungen zwar eine gewisse äußere, formale Ähnlichkeit mit ihr besitzen, die aber auf Grund gewisser Unterschiede doch von ihr abzutrennen sind. Eine solche Trennung wurde durch die Annahme anaphylaktischer und anaphylaktoider Zustände versucht [Auer¹⁾, Loewit²⁾], ohne aber damit den beabsichtigten Erfolg zu erzielen.

Schon im Jahre 1912 wurde von Doerr³⁾ eine große Liste von ganz heterogenen Substanzen zusammengestellt und

1) Auer, Berl. klin. Wochenschr., 1912, No. 33.

2) Loewit, Arch. f. exper. Pathol. usw., Bd. 73, 1913, p. 1.

3) Doerr, Wiener klin. Wochenschr., 1912, No. 9.

später von Seligmann¹⁾ noch ergänzt, welche Meerschweinchen von der Blutbahn aus unter anaphylaktischen oder diesen scheinbar gleichen Symptomen akut (shockartig) töten. Zu dieser Liste sind bis heute wieder zahlreiche neue Stoffe hinzugekommen, von welchen einzelne im folgenden in ihren Wirkungen geprüft werden sollen. Viele dieser Substanzen aus der alten Liste wurden von mir schon früher einer genauen Prüfung am Meerschweinchen unterzogen²⁾ und nur als anaphylaktoid wirksam befunden.

Als einen Typus der akuten anaphylaktischen Shockwirkung beim Meerschweinchen kann man das Vergiftungsbild an dem nach parenteraler Zufuhr eines Eiweißantigens sensibilisierten und nach einiger Zeit intravasal reinjizierten Tiere ansprechen. Es ist nun allseitig anerkannt, daß es ein spezifisches Symptom des akuten tödlichen anaphylaktischen Shocks nicht gibt. Allein die systematische Anwendung der graphischen Methode für die Veränderungen des Blutdruckes und der Atmung im akuten anaphylaktischen Shock, die ich nunmehr schon seit Jahren übe, und die früher bereits von anderen, namentlich von Biedl und Kraus³⁾ in Anwendung gezogen wurde, hat in Uebereinstimmung mit diesen Befunden die Konstanz des Bronchospasmus und der durch ihn bewirkten Lungenblähung unter den akuten, tödlichen Shocksymptomen beim Meerschweinchen ergeben.

Allerdings darf man sich dabei nicht mit der einfachen Feststellung eines vergrößerten Lungenvolumens, bzw. einer Lungenschwellung begnügen, da dieser Zustand aus mehreren Veranlassungen entstehen kann, sondern man muß ermitteln, ob das vergrößerte Lungenvolumen wirklich die Folge eines Bronchospasmus ist, der zwar kein spezifisches Anaphylaxiesymptom ist, der aber in der Regel in keinem Falle einer akut tödlichen Eiweißanaphylaxie beim Meerschweinchen fehlt und für die Sicherung der Diagnose „Anaphylaxie“ bei

1) Seligmann, Handb. d. Biochemie usw., Ergänzungsband, Jena, G. Fischer, 1913, p. 317.

2) Loewit, l. c.

3) Biedl und Kraus, Centralbl. f. Physiol., Bd. 24, 1910, p. 258; Handb. der Technik und Methodik der Immunitätsforsch., herausg. von Kraus und Levaditi, 1. Ergänzungsband, Jena, G. Fischer, 1911, p. 255.

diesem Tiere daher von Belang ist. Andererseits darf aber auch nicht jeder Bronchospasmus und die dadurch bedingte Lungenblähung beim Meerschweinchen als Merkmal eines anaphylaktischen Zustandes angesehen werden, da ein Bronchialmuskelkrampf auch bei anderen Prozessen vorhanden sein kann. Das Verhältnis läßt sich am besten dahin ausdrücken, daß der Bronchospasmus und die dadurch bedingte Lungenblähung für sich allein zur Diagnose eines akuten anaphylaktischen Shockes beim Meerschweinchen nicht genügt, daß er aber bei diesem Tier unter bestimmten Bedingungen ein wichtiges Symptom der anaphylaktischen Vergiftung bildet.

Man kann nun aber die Anwesenheit eines Bronchospasmus beim Meerschweinchen nicht aus einem etwa vorhandenen volumen pulmonum auctum für sich allein erschließen, denn dieses kann beim Tier im akuten Versuch durch starke Lungenhyperämie mit oder ohne Blutungen, sowie durch hochgradiges Lungenödem für sich allein in recht beträchtlichem Grade zustande kommen. Die mikroskopische Untersuchung der Lungen im Schnittpräparat, die von zahlreichen Beobachtern (Biedl und Kraus, Friedberger, Karsner, Kumagai u. a. m.)¹⁾ geübt wurde, gibt zwar eine sichere Erkenntnis über eine Alveolarektasie der Lungen und darf deshalb in keinem Falle außer acht gelassen werden, aber sie vermag die Frage nach der Ursache dieser Ektasie aus der im mikroskopischen Bilde nicht immer mit genügender Sicherheit erkennbaren Verengung des Bronchiallumens nicht zu beantworten. Einen weit zuverlässigeren Schluß gestattet die Einleitung der künstlichen Ventilation bei regulierbarer Größenveränderung der einzelnen Atemstöße an dem im akuten Shock eingegangenen Tier, was von Biedl und Kraus²⁾ bereits betont wurde. In diesem Falle wird der Lufteinblasung ein in der Regel sehr bedeutender Widerstand entgegengesetzt, der erst bei einer bedeutenden Vergrößerung der für normale Tiere erforderlichen Hubhöhe der einzelnen Atemstöße am Respirationsapparate überwunden werden kann. Bei Verwendung des von mir benutzten großen Heringschen Respirations-

1) Die Literaturangaben vgl. bei Loewit, Arch. f. exper. Pathol. usw. Bd. 73, 1913, p. 1.

2) Biedl und Kraus, l. c.

apparates mit elektrischem Betrieb, genügt bei normalen Meerschweinchen bereits die kleinste Hubhöhe des Apparates zwischen 0 und 1, während bei den durch den angeführten Typus des akuten anaphylaktischen Shockes eingegangenen Meerschweinchen die Hubhöhe der Atemstöße auf 7—10 der am Apparat angebrachten Skala erhöht werden muß, ehe die ersten kleinen Atmungen bei graphischer Aufnahme derselben verzeichnet werden, und manchmal genügt auch diese unter normalen Verhältnissen für große Tiere (Kälber usw.) ausreichende Hubhöhe nicht, um eine Lüftung der Lungen zu erzielen.

Verzeichnet man nun im anaphylaktischen Shockversuch die Trachealatemung des Meerschweinchens und gleichzeitig auch die Bauch- bzw. Thoraxatemung, so sieht man bald nach der Reinjektion des Eiweißantigens die Trachealatemung völlig sistieren, während die Bauch- bzw. Thoraxatemung noch eine Zeitlang anhält und schließlich zu intensiven krampfhaften In- und Expirationsstößen anwächst, die aber das Hindernis der Trachealatemung nicht zu überwinden vermögen. Das Tier erstickt allmählich unter Krämpfen, und die bekannten terminalen Atmungen, die aber nur von der Brust- und Bauchmuskulatur, nicht aber von der Trachea aus verzeichnet werden, bilden das Schlußbild des Atemtodes. Zahlreiche solche Atemkurven habe ich in früheren Arbeiten bereits mitgeteilt¹⁾.

Eine andere Reihe von Atemkurven bei akuten tödlichen anaphylaktischen Shockwirkungen, in welchen die Trachealatemung bis zum Schlusse anhält, bei welchen auch die terminalen Atmungen sich in der Kurve der Trachealatemung ausprägen²⁾, und bei welchen die künstliche Ventilation des Tieres nach dem Atemtod bereits bei den niedrigsten Hubhöhen des Apparates, gegebenenfalls bei gleichzeitig stark entwickeltem Lungenödem mit Blutungen und dadurch bedingter mehr oder minder deutlicher Lungenschwellung bei der Hubhöhe 3—4 der Skala gelingt, unterscheiden sich wesentlich von den eben

1) Arch. f. exper. Pathol. usw., Bd. 68, Fig. 1, 2, 3; Bd. 74, Fig. 2; Biochem. Zeitschr., Bd. 82, Fig. 1, 2, 3, 4.

2) Arch. f. exper. Pathol. usw., Bd. 73, Fig. 15, 16; Bd. 74, Fig. 6; Bd. 77, Fig. 3, 7.

erörterten Kurvenbildern; sie weisen nicht auf einen Bronchospasmus als Erstickungsursache hin, sprechen vielmehr dafür, daß die akute anaphylaktische Shockwirkung auch ohne Bronchospasmus einhergehen und durch eine anderweitig bedingte Atemlähmung zum Tode führen kann. Es lassen sich auf diese Weise zwei Typen akuter, letal endigender anaphylaktischer Symptomenbilder auseinanderhalten: Der erste Typus geht stets mit Bronchospasmus und konsekutiver Lungenblähung einher, die mit Hyperämie bzw. Lungenödem vergesellschaftet sein kann; er entspricht der akuten Eiweiß- bzw. Serumanaphylaxie, nach parenteraler Zufuhr und intravasaler Reinjektion eines Eiweiß- bzw. Serumantigens. Der zweite Typus verläuft ohne Bronchospasmus, ein vergrößertes Lungenvolum kann durch mehr oder minder hochgradiges Lungenödem mit Lungenhyperämie bis zu einem gewissen Grade vorhanden sein, ein bronchospastisches Atemhindernis besteht aber nicht, die Tiere gehen durch zentrale oder periphere Atemlähmung zugrunde, in den übrigen Symptomen (Hyperämie im Splanchnicusgebiet, verzögerte bzw. aufgehobene Blutgerinnung, Blutungen in den Lungen, im Herzen, Zwerchfell u. a. m.) besteht aber dem ersten Typus gegenüber kein Unterschied. Die Atmung erlischt bei diesem zweiten Typus in der Regel allmählich und kann meistens auch bis zum Schluß oder bis nahe zum Schluß an der Trachealkurve verfolgt werden. Dieser zweite Typus entspricht dem Endstadium der chronischen bzw. passiven Anaphylaxie und kann bei Meerschweinchen auch akut im Versuch hervorgerufen werden¹⁾. Die Bedingungen näher anzuführen, unter welchen es gerade zur Ausbildung dieses zweiten Typus der akuten anaphylaktischen Vergiftung beim Meerschweinchen kommt, bleibt einer weiteren Mitteilung vorbehalten. Im folgenden sollen zunächst die Resultate der Prüfung gewisser Substanzen erörtert werden, deren Wirkung im akuten Meerschweinchenversuch mit der anaphylaktischen Giftwirkung identifiziert wurde und die Veranlassung gab zur Aufstellung verschiedener Theorien über das Wesen und Zustandekommen des anaphylaktischen Prozesses.

1) Vgl. Loewit, Arch. f. exper. Pathol. usw., Bd. 73, 74.

I. Versuche zur Absorptionstheorie des anaphylaktischen Shocks.

a) Kaolinversuche.

Von den in der Literatur zerstreuten, sehr zahlreichen Angaben über die durch intravasale Injektion von fein zerteiltem Kaolin im Blute veranlaßten Veränderungen und dadurch bedingten Vergiftungserscheinungen seien hier nur die wichtigsten hervorgehoben. Eine Reihe von Autoren sieht die Ursache der nach Kaolininjektion beim Meerschweinchen auftretenden anaphylaktischen bzw. anaphylaktoiden Vergiftungserscheinungen in chemisch-physikalischen Veränderungen innerhalb des Blutes bzw. des Blutserums, die hauptsächlich auf Komplementadsorption zurückgeführt werden und zum Auftreten sogenannter kryptotoxischer, d. i. normalerweise verdeckter Vergiftungserscheinungen Veranlassung geben [Ritz und Sachs¹⁾, Bauer²⁾, Doerr³⁾, Achard⁴⁾, Mutermilch⁵⁾]. Eine andere Gruppe von Autoren führt die nach intravenöser Kaolinzufuhr auftretenden shockartigen Erscheinungen auf die Adsorption von Serumantiferment (Antitrypsin) und dadurch bedingten Eiweißabbau und das Auftreten giftiger Eiweißabbauprodukte zurück [Doerr³⁾, Pfeiffer und Jarisch⁶⁾, Bordet und Zunz⁷⁾, Jobling und Petersen⁸⁾]. In naher Beziehung zu dieser Annahme steht die Angabe von Hirschfeld und Klinger⁹⁾, daß

1) Ritz und Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 22; Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Beiheft, Bd. 54, 1912, p. 248.

2) Bauer, Berl. klin. Wochenschr., 1911, p. 344, 522.

3) Doerr, Wiener klin. Wochenschr., 1912, No. 9; Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 62, 1912, p. 146; Kolle-Wassermann, Handb. der pathog. Mikroorg., 2. Aufl., Bd. 2, p. 947.

4) Achard, La Semaine méd., 1913, No. 20.

5) Mutermilch, Soc. Biol., T. 72, 1912, p. 56; Ann. Pasteur, T. 27, 1913, p. 83.

6) Pfeiffer und Jarisch, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 16, 1913, p. 38.

7) Bordet und Zunz, ebenda, Bd. 23, 1914, p. 42.

8) Jobling und Petersen, Journ. of exper. Med., Vol. 20, 1914, p. 37; Vol. 22, 1915, p. 401, 568, 597, 603; Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 23, 1914, p. 71; Bd. 24, 1915, p. 219, 292, 459, 468.

9) Hirschfeld und Klinger, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Beiheft, Bd. 57, 1913, p. 231; Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 20, 1914, p. 51 81; Bd. 21, 1914, p. 40.

durch Kaolin und ähnliche Suspensionen (Bakterien) eine Zytosymierung, d. i. die Adsorption eines Gerinnungsfaktors (Zytosym = Kinase) erfolgt, wahrscheinlich eines Lipoids, wodurch einesteils die zytozymierten Partikelchen die Fähigkeit erlangen, in einer Serozym (Thrombogen) + Fibrinogen + Ca enthaltenden Flüssigkeit Gerinnung hervorzurufen, wogegen anderenteils im entzytozymierten Meerschweinchenserum ein Eiweißabbau mit Bildung giftiger Abbauprodukte erfolgt.

Eine andere Auffassung führt die Giftwirkung des kaolinisierten Meerschweinchenserums auf bakterielle Verunreinigung oder auf Kaolinembolien infolge nicht genügend abzentrifugierter Kaolinreste im Serum zurück [Friedberger¹⁾]. In einer späteren Untersuchung wird jedoch anerkannt, daß die Giftwirkung des Kaolins in vivo mechanisch nicht zu erklären ist, sondern auf einer Adsorption gewisser Bestandteile lebenswichtiger Zellen beruhen dürfte [Friedberger und Tsuneoka²⁾]. Dadurch gewinnt aber die Auffassung eine indirekte Stütze, daß auch in vitro, d. i. im kaolinisierten Meerschweinchenserum durch Adsorption gewisser Serumbestandteile eine „Giftung“ des Serums zustande kommen kann. In der letzten Mitteilung zu dieser Frage wird jedoch die Serumgiftigkeit durch Kaolin in Bestätigung der früheren Angaben ausschließlich auf bakterielle Verunreinigung bzw. auf Kaolinreste zurückgeführt [Friedberger und Joachimoglu³⁾], mithin eine Giftbildung durch Kaolin im Serum überhaupt nicht angenommen. Auch andere Autoren haben das kaolinisierte Serum gelegentlich giftfrei befunden [Kraus und Kirschbaum⁴⁾, Hirschfeld und Klinger⁵⁾, P. Schmidt⁶⁾].

1) Friedberger, Centrabl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Beiheft, Bd. 50, 1911, p. 71; Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 18, 1913, p. 261.

2) Friedberger und Tsuneoka, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 20, 1914, p. 405.

3) Friedberger und Joachimoglu, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 84, 1917, p. 336.

4) Kraus und Kirschbaum, Wiener klin. Wochenschr., 1913, No. 20.

5) Hirschfeld und Klinger, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21, 1914, p. 73.

6) P. Schmidt, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 83, 1917, p. 89.

Es handelt sich also bei der Nachprüfung dieser differierenden Angaben darum festzustellen, ob die durch Kaolin im Serum bzw. im Blute bedingte Giftwirkung den im Vorausgehenden erörterten Typen des anaphylaktischen Prozesses entspricht, oder ob nach vollständiger Abzentrifugierung des Kaolins aus dem Serum diesem überhaupt keine Giftwirkung mehr zukommt.

Alle in dieser Beziehung angestellten Versuche sind bei graphischer Verzeichnung des Blutdruckes und der Atmung in der Regel am hirudinisierten Tiere in der von

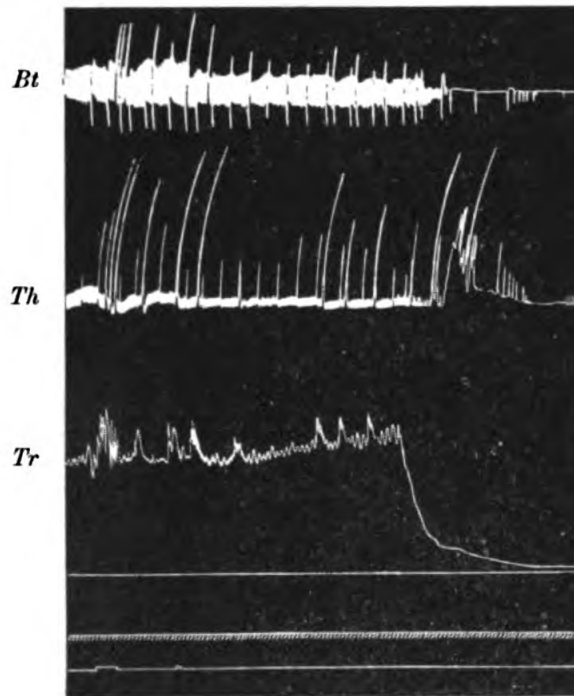


Fig. 1. Meerschw. 34, Gewicht 400 g. Versuch am 16. IV. 1915, Hirudin. *Bt* = Carotiskurve, *Th* = Thoraxatmung, *Tr* = Trachealatmung. Kaolininjektion intravenös. Künstliche Ventilation gelingt bei Hubhöhe 3.

NaCl intravenös injiziert (Fig. 1), es tritt vorübergehende Atemunruhe mit diesen Atemspirationsstößen und vorübergehender Atemverlangsamung ein. Diese kräftigen Exveränderung gibt sich auch im Blutdruck durch vorübergehende Drucksteigerung und starke Druckschwankungen kund, worauf wieder eine normale Verzeichnung von Blutdruck und Atmung folgt. Eine zweite In-

mir bereits beschriebenen Weise¹⁾ ausgeführt worden. Die intravasale Injektion erfolgt entweder intravenös in die Jugularvene herzwärts oder auch intraarteriell in die Art. carotis herzwärts; die Wirkung der Injektion ist in beiden Fällen bei langsamem Vordrücken des Spritzeninhaltes gleich. Das verwendete Kaolinpräparat stammt von Kahlbaum und wurde stets im feinstverteilten Zustande injiziert. Die im folgenden mitgeteilten Versuche stellen besonders charakteristische Beispiele der Kaolinwirkung dar.

1) Normales Meerschweinchen No. 34, 400 g Gewicht, wird am 16. IV. 1915 intravenös hirudinisiert, hierauf wird 0,03 Kaolin in 5 ccm

1) Vgl. Arch. f. exper. Pathol. usw., Bd. 65, p. 337; Bd. 68, p. 83; Bd. 73, p. 1; Bd. 74, p. 164; Bd. 77, p. 186; Biochem. Zeitschr., Bd. 82 p. 72.

jektion von 0,03 Kaolin in 2 ccm NaCl ergibt keine wesentlichen Veränderungen in der Blutdruck- und Atemkurve. Nun wird nach einigen Minuten (rund 5) 0,08 Kaolin in 2 ccm NaCl auf gleichem Wege injiziert: nach wenigen Herzschlägen tritt plötzlicher Herzkollaps ein, und der Blutdruck fällt unter Krämpfen der Körpermuskulatur rasch bis nahe zur Nulllinie ab. In der Atemkurve macht sich eine kurzdauernde Atemverlangsamung und Verflachung geltend, worauf sich bei deutlichen krampfhaften Innervationen der Bauchmuskeln (Kurve *Th*) Atempausen in der Kurve der Tracheal-atmung (*Tr*) einstellen, die bald in die terminalen Atmungen übergehen, die auch in der Trachealatemungskurve *Tr* deutlich ausgeprägt sind. Nach Aufhören der Spontanatmung läßt sich die künstliche Ventilation bereits bei Hubhöhe 3 erzielen.

Bei der Sektion werden in den Coronargefäßen kleine weiße Kaolinpfropfe, die verdrückt werden können, gefunden, im rechten Vorhof befindet sich ein mit Kaolinteilchen untermengtes Blutgerinnsel, auch im rechten Herzen sind kleinste weiße Kaolinteilchen an den Wandungen, namentlich an den Papillarmuskeln nachweisbar; im linken Herzen sind nur ganz vereinzelte weiße Pünktchen vorhanden, das Blut in beiden Ventrikeln ist flüssig. Die Lungen sind klein und schlaff, einzelne punktförmige Blutungen sind vorhanden.

Das Tier hat also zwei intravenöse Injektionen von je 0,03 Kaolin gut vertragen und ist einer dritten Injektion von 0,08 Kaolin infolge Embolisierung der Coronararterien erlegen. Die Veränderungen der Blutdruck- und Atemkurve für sich allein zeigen mancherlei Analogie mit dem Verhalten im akuten tödlichen anaphylaktischen Shock des zweiten Typus, die nachgewiesene Embolisierung der Coronararterien, sowie die intracardiale Blutgerinnung gehören jedoch nicht zum anaphylaktischen Symptomenbilde und sind als die eigentliche Todesursache anzusprechen.

2) Normales Meerschweinchen No. 35, Gewicht 400 g, wird am 19. IV. 1915 intravenös hirudinisiert, hierauf wird auf dem gleichen Wege 0,1 Kaolin in 4,5 ccm NaCl injiziert (Fig. 2): Der Blutdruck sinkt nach kurzer Zeit rapid ab, ähnlich wie in Fig. 1, es tritt jedoch ein neuerlicher Anstieg desselben bei verlangsamter Schlagfolge des Herzens ein. Der Anstieg macht bald einem neuerlichen Absinken Platz, die Herzkontraktionen verschwinden in der Kurve, und der Druck sinkt ständig bis nahe zur Nulllinie ab. Die Atmung nimmt noch während der Injektion stürmischen Charakter an, worauf sich bald eine Verlangsamung und inspiratorische Vertiefung der Atmung, zeitweise auch Körperkrämpfe einstellen, die thorakalen Atmungen überdauern die trachealen, doch sind die terminalen Atmungen auch hier in der Trachealkurve deutlich ausgeprägt. Nach Aufhören der Spontanatmung gelingt die künstliche Ventilation bereits bei Hubhöhe 3 des Respirationsapparates (Kurve *Th*).

Bei der Sektion zeigt sich das Herz mit flüssigem Blut erfüllt, Kaolinteilchen sind weder in ihm noch in den Coronargefäßen sichtbar. An der Hirnbasis und in den Plexus chorioidei sind in den Gefäßen einzelne weiße Pünktchen kenntlich. In den unteren Hohlvenen und einzelnen Aesten derselben ist das Blut fest geronnen, in dem Gerinnsel sind an verschiedenen Stellen weißliche Klümpchen und Pünktchen kenntlich. Die Lungen sind mäßig vergrößert, starkes Oedem mit lokalen Blutungen.

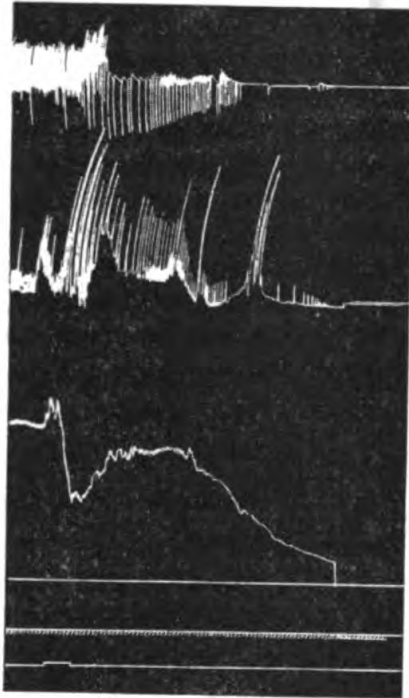


Fig. 2. Meerschweinchen 35, Gewicht 400 g. Versuch am 16. IV. 1915. Bezeichnung wie in Fig. 1. Hirudin. Untere Marke 0,1 Kaolin intravenös. Künstliche Ventilation bei Hubhöhe 3.

Als Todesursache kann bei diesem Tier die Embolisierung der Hirngefäße, sowie die ausgedehnte Gerinnselformung im Gefäßbereiche der Vena cava inf. angesprochen werden, wobei aller Wahrscheinlichkeit nach eine Fremdkörperthrombose (Gerinnung um Kaolinteilchen) vorliegt. Eine nähere Beziehung zum anaphylaktischen Prozesse liegt auch in diesem Falle nicht vor.

3) Normales Meerschweinchen No. 36, Gewicht 330 g, wird am 20. IV. 1915 intravenös hirudinisiert, hierauf werden 0,08 Kaolin, in 5 ccm NaCl aufgeschwemmt, injiziert. Sehr bald tritt ein rapider Sturz des Blutdruckes ein (Fig. 3), ähnlich wie in Fig. 1 und 2; nach einem kurzen Blutdruckanstieg gerinnt das Blut in der Gefäßkanüle zum Manometer. In der Atmung stellen sich im Anschluß an die Injektion stürmische

Atmungen mit krampfhaften In- und Expirationsstößen und Uebergang in Inspirationsstellung mit Körperkrämpfen ein. Sehr bald erscheinen Atempausen, und unter terminalen Atmungen, die auch in der *Tr*-Kurve sehr deutlich erscheinen, stirbt die Atmung ab. Die künstliche Ventilation gelingt bei Hubhöhe 3 des Respirationsapparates.

Bei der Sektion finden sich mächtige Gerinnsel in den Hohlvenen, in den Jugularvenen und den Subclavicularvenen ohne weiße Einschlüsse. Das rechte Herzohr und der rechte Ventrikel sind mit mächtigen roten Thrombusmassen ausgefüllt, der linke Ventrikel und das linke Herzohr sind frei. Die Lungen sind klein, blaß, stellenweise Blutungen und Infarkte.

Auch in diesem Falle ist die ausgebreitete intravitale Thrombose im Anschluß an die Kaolininjektion als Todesursache anzusprechen. Eine Verwechselung mit dem Verhalten beim akuten anaphylaktischen Shock ist auch hier nicht möglich.

4) Normales Meerschweinchen No. 44, Gewicht 370 g. Versuch am 11. V. 1915 ohne Hirudin. Nach intravenöser Injektion von 0,03 Kaolin in 3 ccm NaCl tritt sehr bald Gerinnung in der Carotiskanüle ein (Fig. 4).

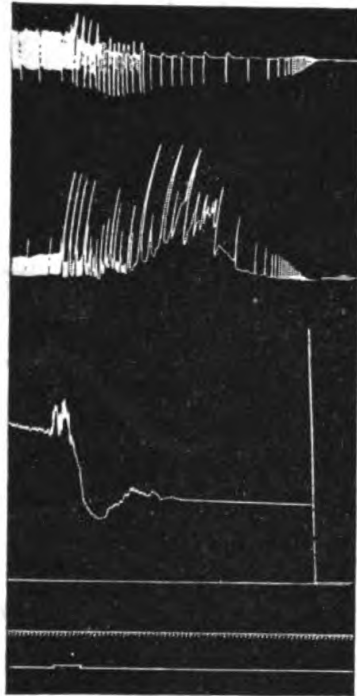


Fig. 3.

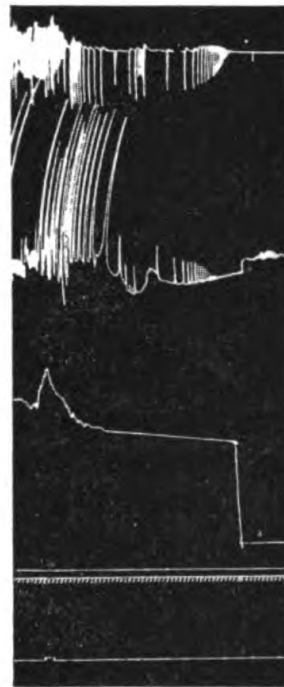


Fig. 4.

Fig. 3. Meerschweinchen 36, Gewicht 330 g. Versuch am 20. IV. 1915. Hirudin. Bezeichnung wie in Fig. 1. Untere Marke 0,08 Kaolin intravenös. Künstliche Ventilation bei Hubhöhe 3.

Fig. 4. Meerschweinchen 44, Gewicht 370 g. Bezeichnung wie in Fig. 1. Ohne Hirudin. Untere Marke 0,03 Kaolin intravenös. Künstliche Ventilation bei Hubhöhe 2.

Die Atmung verhält sich im wesentlichen wie in den vorausgehenden Versuchen. Der Tod tritt unter allgemeinen Krämpfen ein. Die künstliche Ventilation gelingt bereits bei Hubhöhe 2 des Respirationsapparates.

Bei der Sektion findet sich das Blut in der oberen und unteren Hohlvene, in den Mesenterialgefäßen, in den Subclaviavenen nahezu vollständig zu einem dicken Strang geronnen. Das Herz schlägt noch schwach, in den Coronarvenen Blutgerinnsel, in allen Herzhöhlen flüssiges Blut. In

den Pulmonalgefäßen geronnenes Blut, die Gerinnsel in den Gefäßen können auch am Lungenschnitt verfolgt werden. Die Lungen sind klein, mit oberflächlichen schwarzen Blutpunkten.

Ohne Hirudin wirken bereits 0,03 Kaolin tödlich (vgl. Versuch 1) durch eine hochgradige intravitale Thrombose; es ist bemerkenswert, daß in diesem Falle, wie auch in Versuch 2 und teilweise auch in Versuch 3 im Herzen flüssiges Blut gefunden wurde. Eine Verwechselung mit einem akuten tödlichen anaphylaktischen Shock ist auch hier ausgeschlossen.

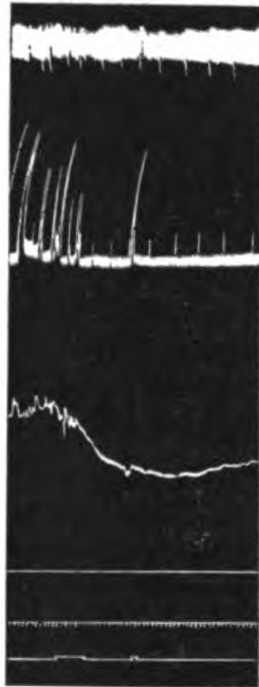


Fig. 5. Meerschweinchen 38. Gewicht 330 g. Hirudin. Bezeichnung wie in Fig. 1. Untere Marke 5 ccm Kaolinserum, 1 Stunde lang zentrifugiert, intravenös injiziert.

5) Ein Meerschweinchen. 530 g, wird entblutet, das Defibrinierungsserum wird mit 2 g Kaolin $1\frac{1}{4}$ Stunde in der Maschine geschüttelt und kommt dann für 20 Stunden in den Thermostaten. Hierauf wird das Serum auf einer elektrisch betriebenen Zentrifuge (Lautenschläger) mit 4—5000 Umdrehungen in der Minute 1 Stunde lang zentrifugiert, bis kein Bodenbelag mehr abgesetzt wird. Das zentrifugierte Serum ist stark opaleszent und durchscheinend. Am 27. IV. 1915 werden 5 ccm desselben einem hirudinisierten Meerschweinchen No. 38, Gewicht 330 g, intravenös injiziert (Fig. 5); es treten einige Unregelmäßigkeiten der Herzschlagfolge, sowie vorübergehende Atemunruhe ein. Der Blutdruck sinkt langsam etwas ab. Eine Nachinjektion von 1 ccm des zentrifugierten Serums ruft keine nennenswerte Wirkung hervor, der Blutdruck steigt langsam wieder an, die Atmung ist wieder vollständig regelmäßig geworden. Das Tier wird anderweitig verwendet.

6) Einen im wesentlichen gleichen Erfolg zeigte der Versuch 6, bei welchem 10 ccm Defibrinierungsserum eines 600 g schweren Meerschweinchens mit 2 g Kaolin 5 Stunden in der Maschine geschüttelt und dann sofort 1 Stunde lang ebenso wie in Versuch 5 zentrifugiert wurden. Von diesem zentrifugierten Serum wurden unmittelbar darauf am 29. IV. 1915 einem hirudinisierten Meerschweinchen No. 39, Gewicht 360 g, intravenös erst 5 ccm und etwas später 4 ccm injiziert (Fig. 6). Beide Male tritt Herzunregelmäßigkeit und Blutdrucksenkung, das erste Mal auch inspiratorische Atemunruhe mit nachfolgender Verlangsamung als vorübergehende Erscheinung auf; der Blutdruck bleibt niedrig und steigt nur langsam an. Das Tier erholt sich

vollständig und wird nachträglich zu einem typischen Shockversuch mit Weizenkleienextrakt¹⁾ verwendet.

7) 9 ccm Defibrinierungsserum eines normalen Meerschweinchens von 650 g werden mit 1,5 g Kaolin versetzt und 1 Stunde in der Maschine geschüttelt, dann 17 Stunden im Thermostaten bei 37° stehen gelassen. Nunmehr wird das Kaolinserum 1 Stunde lang energisch zentrifugiert (wie in Versuch 5 und 6). Zwei Agarplatten, mit je 1 ccm des auszentrifugierten Serums gegossen, erweisen sich bis auf je 2 Kolonien des Wurzelbacillus

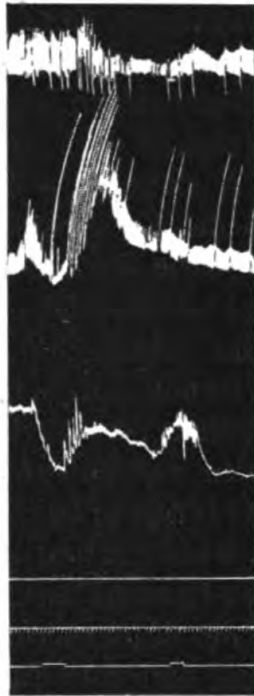


Fig. 6.

Fig. 6. Meerschweinchen 39, Gewicht 360 g. Hirudin. Bezeichnung wie in Fig. 1. Untere Marke 5 ccm und 4 ccm Kaolinserum, geschüttelt und 1 Stunde zentrifugiert, intravenös injiziert.

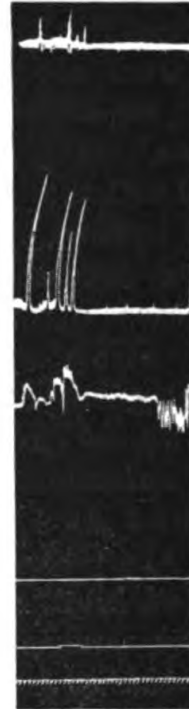


Fig. 7.

Fig. 7. Meerschweinchen 207, Gewicht 370 g. Hirudin. Bezeichnung wie in Fig. 1. Untere Marke 6 ccm Kaolinserum, geschüttelt, dann 1 Stunde zentrifugiert, intravenös injiziert.

auf jeder Platte steril. Am 13. II. 1918 werden beim hirudinisierten Meerschweinchen No. 207, Gewicht 370 g, intravenös 6 ccm des obigen auszentrifugierten Kaolinserums injiziert (Fig. 7), bis auf kurzdauernde Atemunruhe und eine anfängliche und später sich wiederholende vorübergehende Herzarhythmie, ohne jeden anderweitigen Erfolg. Das Tier wird anderweitig verwendet.

1) Vgl. Loewit, Biochem. Zeitschr., Bd. 82, 1917, p. 72.

Ein Ueberblick dieser hier nur in wenigen Beispielen mitgeteilten Kaolinversuche ergibt zunächst in Uebereinstimmung mit den Angaben von Friedberger und Joachimglu¹⁾ und den älteren Angaben von Friedberger²⁾, daß das völlig auszentrifugierte Kaolinserum eine eigentliche Giftwirkung für das normale Meerschweinchen nicht besitzt (Versuch 5, 6, 7), die mit einer anaphylaktischen Giftwirkung in Beziehung gebracht werden könnte. In dem Versuche 7 ist eine vorübergehende Wirkung des injizierten Kaolinserums auf Blutdruck und Atmung kaum angedeutet, im Versuche 5 und 6 ist sie stärker entwickelt; es liegt deshalb nahe, daran zu denken, daß in diesen beiden Versuchen doch noch nicht genügend entfernte Kaolinreste an der Auslösung der stärkeren Wirkung beteiligt sind. Insofern also die Kaolinversuche als Stütze der sogenannten Adsorptionstheorie der Anaphylaxie angesprochen werden, wonach infolge Adsorption gewisser normaler Serumbestandteile durch das Kaolin die Bildung eines Giftes mit anaphylaktischer Wirkung im Serum veranlaßt wird, so geht aus den mitgeteilten Versuchen 5, 6, 7 in Uebereinstimmung mit den Befunden von Friedberger hervor, daß das völlig auszentrifugierte Kaolinserum eine anaphylaktische Giftwirkung beim normalen Meerschweinchen überhaupt nicht auslöst. Die vermeintliche Giftwirkung des Kaolinserums beim Meerschweinchen ist auf nicht genügend entfernte Kaolinreste im Serum zurückzuführen, eine Giftbildung im Kaolinserum selbst kann nicht nachgewiesen werden.

Die tödliche Wirkung des dem lebenden Meerschweinchen intravasal injizierten Kaolins selbst ist durch mehr oder weniger ausgedehnte intravasale Thrombose bedingt, die entweder auf die Coronargefäße und einzelne Herzabschnitte allein beschränkt sein kann (Versuch 1) oder aber sich auf ein mehr oder weniger großes peripheres, vorwiegend venöses Gefäßgebiet mit Ausschluß des Herzens beschränken kann, in welchem dann sehr häufig flüssiges Blut nachweisbar ist (Ver-

1) l. c.

2) l. c.

such 2, 4), in manchen Fällen sind aber auch noch in einzelnen Herzabschnitten und in einzelnen Kranzgefäßen Gerinnungsthromben nachweisbar (Versuch 3, 4). Eine zur Aufhebung der Blutgerinnung völlig ausreichende Hirudinmenge vermag das Zustandekommen der Thrombose nicht hintanzuhalten, doch tritt dieselbe ohne Hirudin bei kleineren Kaolindosen ein (Versuch 4). Die Erscheinungen des durch die intravasale Thrombose bedingten akuten tödlichen Kaolinshockes sind von den Symptomen des akuten tödlichen anaphylaktischen Shockes beim Meerschweinchen sicher zu unterscheiden, Kaolinshock und anaphylaktischer Shock können daher nach den mitgeteilten Versuchen zueinander nicht in Beziehung gebracht werden. In keinem Falle wird durch intravasale Injektion von Kaolin oder völlig auszentrifugiertem Kaolins serum eine durch Bronchospasmus bedingte Lungenblähung veranlaßt, was auch von Friedberger und Tsuneoka¹⁾ bereits hervorgehoben wurde.

Die intravitale Kaolinthrombose ist wahrscheinlich eine Fremdkörperthrombose, bei welcher die von Hirschfeld und Klinger²⁾ betonte Adsorption eines Gerinnungsfaktors durch das Kaolin (Zytozymierung der Suspension) eine bedeutsame Rolle spielen dürfte; die von Friedberger und Tsuneoka¹⁾ hervorgehobene Adsorption gewisser Bestandteile lebenswichtiger Zellen für eine nicht mechanisch erklärbare Giftwirkung des Kaolins in vivo erhält dadurch eine gewisse Unterlage. Jobling, Petersen und Eggstein³⁾ sind geneigt, die tödliche Kaolinvergiftung (bei Hunden) auf die Absorption des Serumantifermentes, Steigerung des Proteasengehaltes im Serum und die Bildung giftiger Eiweißabbauprodukte im Serum zurückzuführen. Ob nicht auch beim Hunde intravitale Thrombosen an der tödlichen Kaolinvergiftung beteiligt sind, neben welcher die nachgewiesene Proteasenvermehrung als Begleiterscheinung einhergeht, ist aus den vorliegenden Angaben nicht ersichtlich.

1) l. c.

2) l. c. p. 102.

3) Jobling, Petersen und Eggstein, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 24, 1916, p. 469.

b) Serotoxin und Jodserum.

Jobling und Petersen¹⁾ geben an, daß antitrypsin-freies Serum (gewonnen durch Chloroform- oder Aetherextraktion, durch Jodeinwirkung u. a. m.) höchst giftig für homologe Tiere (Meerschweinchen, Kaninchen) wirkt; derartige Sera wurden als Serotoxin bezeichnet. Das [nach den Angaben von v. Dungern und Hirschfeld²⁾] jodierte Serum verursacht bei Meerschweinchen typischen anaphylaktischen Shock. Frisch präparierte Chloroform- und Aethersera führen nach Jobling und Petersen durch sofortige Herzthrombose den Tod herbei. Bei der Injektion einer Dosis letalis minima eines solchen bei Zimmertemperatur präparierten Serums findet sich gewöhnlich keine Gerinnung, sondern das typische Bild eines anaphylaktischen Shocks, der Tod erfolgt nach Jobling und Petersen durch akute Lungenblähung, er wird auch durch Na. citricum und durch Hirudin nicht verhindert. Durch die Absorption des Antitrypsins im Serum werden die Serumeiweißkörper freigelegt und den Fermenten zugänglich gemacht, wodurch eine Bildung von toxischen Spaltprodukten aus Serumeiweiß durch Selbstverdauung erfolgt. Auch angesäuertes und mehrere Male durch Berkefeldfilter filtrierte Serum wirkt nach Jobling und Petersen³⁾ höchst giftig, und 3—4 ccm desselben werden unter anaphylaktischen Symptomen als akut tödlich bezeichnet.

Als Beispiel für die Wirkung eines nach den Angaben von Jobling und Petersen vor 6 Stunden hergestellten Chloroformserums am Meerschweinchen sei der folgende Fall angeführt, zwei weitere Versuche verliefen im wesentlichen gleichlautend.

Am 29. I. 1918 werden beim hirudinisierten Meerschweinchen No. 204, Gewicht 340 g, intravenös 4 ccm Chloroformserum injiziert (Fig. 8), bis die ersten Veränderungen der Blutdruck- bzw. Atemkurve sichtbar werden. Der Blutdruck sinkt rapid um nahezu $\frac{2}{3}$ des anfänglichen Wertes ab; hierauf stellen sich bei langsamer Drucksenkung kräftige Herzschläge ein, und der

1) Jobling und Petersen, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 23, 1914, p. 76; Bd. 24, 1914, p. 292.

2) v. Dungern und Hirschfeld. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 11, 1911, p. 557.

3) l. c.

Blutdruck erreicht unter zweimaligem Anstieg und Abfall nahezu die ursprüngliche Höhe, um dann neuerdings rasch beträchtlich abzusinken. Die noch immer kräftigen Herzkontraktionen verkleinern sich zusehends, verschwinden endlich ganz infolge Gerinnung in der Manometerkanüle.

Die Atmung zeigt bald nach vollendeter Injektion einige längere expiratorische Pausen mit dazwischenliegenden abgeschwächten Respirationen, worauf sofort die terminale Atmung beginnt, die auch in der Trachealkurve bis zum Schluß sichtbar ist. Nach Schluß der spontanen

Atmungen ist die künstliche Ventilation der Lungen bereits bei Hubhöhe 2 des Respirationsapparates möglich.

Die sofort vorgenommene Sektion ergibt hochgradige Hyperämie aller Unterleibsorgane, die Muskulatur der Bauchhöhle ist blutig suffundiert. Das Blut in der Vena cava inf. ist flüssig, das Herz ist prall mit Blut gefüllt, macht noch schwache Kontraktionen. Im rechten Herzen sitzt ein mächtiges Gerinnsel, ausgebreitete Thrombose in der Vena cava sup. und der Vena subclavia, im linken Herzen nur kleine Thrombusmassen. Die Lungen sind klein, hyperämisch, lufthaltig, mit kleinen Blutflecken und Blutpunkten durchsetzt, kein Oedem.

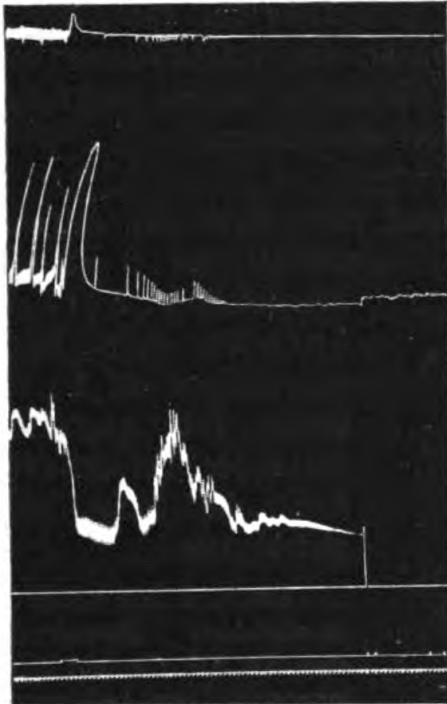


Fig. 8. Meerschweinchen 204, Gewicht 340 g. Hirudin. Bezeichnung wie in Fig. 1. Untere Marke 4 ccm Chloroformserum intravenös. Künstliche Ventilation bei Hubhöhe 2.

Schon die Berücksichtigung der Blutdruckkurve (Fig. 8) ergibt auffällige Unterschiede gegenüber dem Verhalten im typischen anaphylaktischen Shock: Das rapide Absinken, das hier

(Fig. 8) bereits am Ende der Injektion einsetzt, stellt sich in der Anaphylaxiekurve in der Regel erst spät als Zeichen der dyspnoischen Schädigung des Herzens ein, eine derartige Restitution, wie sie hier statthat, kommt in der Anaphylaxiekurve nicht vor, in welcher auch die definitive Gerinnung am hirudinisierten und am nicht hirudinisierten Tiere niemals eintritt. In der Atmungskurve sind schon die anfänglichen Atem-

pausen auffällig, ebenso die geringe Entwicklung der Atem- und Körpermuskelkrämpfe, sowie das rasche Einsetzen der terminalen Atmungen, deren Anwesenheit in der Trachealkurve die Gegenwart eines Bronchospasmus und der Lungenschwellung ausschließt, was durch die Sektion bestätigt wird. Die ausgedehnten, im Herzen und in den Gefäßen bei Anwendung kleinster, eben wirksamer Serumdosen nachgewiesenen Gerinnungen, die sich offenbar erst im Verlaufe der Shockerscheinungen ausbilden, sind gleichfalls ein ausreichendes Unterscheidungsmerkmal gegenüber der aufgehobenen bzw. verzögerten Gerinnbarkeit des Blutes im akuten anaphylaktischen, tödlichen Shock des Meerschweinchens.

Als Beispiel für die Wirkung eines nach den Angaben von Jobling und Petersen gleichfalls vor 6 Stunden hergestellten Aetherserums vom Meerschweinchen sei der folgende Fall angeführt; drei andere Versuche verliefen im wesentlichen gleichlautend.

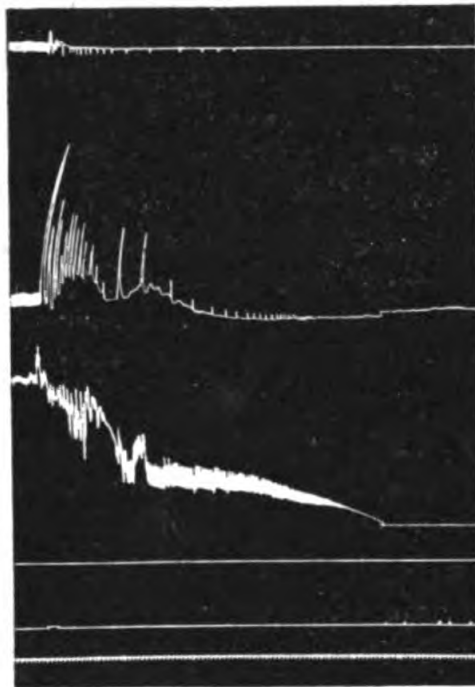


Fig. 9. Meerschweinchen 205, Gewicht 320 g. Hirudin. Bezeichnung wie in Fig. 1. Untere Marke 3 ccm Aetherserum intravenös. Künstliche Ventilation bei Hubhöhe 2—3

Am 31. I. 1918 erhielt das hirudinisierte Meerschweinchen No. 205, Gewicht 320 g, intravenös 3 ccm Aetherserum bis zum Erscheinen der Blutdruck- und Atemveränderungen injiziert. Die Blutdruckkurve (Fig. 9) zeigt ein allmähliches Absinken mit anfänglichen Unregelmäßigkeiten, später kräftige regelmäßige Herzkontraktionen, die allmählich kleiner werden und schließlich wegen Gerinnung in der Manometerkanüle ganz verschwinden. Die Atemkurve zeigt nur anfänglich einige stürmische expiratorische Respirationen, worauf sofort verlangsamte, durch Pausen getrennte, sich allmählich verkleinernde Atmungen folgen, die auch noch einige Zeit, wenn

spirationen, worauf sofort verlangsamte, durch Pausen getrennte, sich allmählich verkleinernde Atmungen folgen, die auch noch einige Zeit, wenn

auch nur andeutungsweise, in der Trachealkurve ausgeprägt sind. Nach Aufhören der Spontanatmung kann die künstliche Respiration bereits zwischen Hubhöhe 2—3 des Respirationsapparates eingeleitet werden.

Die sofort vorgenommene Sektion zeigt deutliche Hyperämie der Bauchhöhle, des Dünndarmes, Mesenteriums etc. Das Blut in der Vena cava inferior und superior, in der Vena subclavia, im rechten und linken Ventrikel, in der Art. pulmonalis und deren größeren Zweigen ist fest geronnen. Blutungen im Herzen und im Zwerchfell, Lungen stark hyperämisch, zahlreiche punkt- und flächenförmige Blutungen, schwaches Lungenödem, Volumen etwas vergrößert.

Die Blutdruck- und Atemkurven, sowie auch das übrige Verhalten des Tieres bieten eine gewisse Aehnlichkeit mit den Erscheinungen des zweiten Typus des akuten anaphylaktischen Shocks beim Meerschweinchen. Aber der Nachweis der ausgebreiteten, im Verlaufe des Shocks auftretenden intravitalen Gerinnung des Blutes bei Anwendung minimaler Serumdosen bietet ein entscheidendes Merkmal, um auch die durch das Chloroform- und Aetherserum am Meerschweinchen ausgelösten Erscheinungen von der anaphylaktischen Vergiftung abzutrennen. Es ist mir aber auch je ein Fall vorgekommen, wo nach der Injektion von in gleicher Weise hergestelltem Chloroform- und Aetherserum die intravitale Gerinnung ausblieb, das Blut bei der Sektion in allen Herz- und Gefäßabschnitten flüssig befunden wurde, was Jobling und Petersen als Regel angeben, was aber in meinen Versuchen nur ausnahmsweise eintrat. Ich vermute, daß es sich dabei um die sogenannte negative Phase der Gerinnung handelt, wobei der Eintritt der Gerinnung wahrscheinlich infolge Ueberwiegens gerinnungshemmender Faktoren im Blute verhindert wird, dasselbe daher im flüssigen Zustande verharret.

Durch die Behandlung des Meerschweinchen-serums mit Chloroform und mit Aether werden daher gewisse Veränderungen im Serum veranlaßt, die intravital im homologen Tiere akute Vergiftungserscheinungen hervorrufen, die aber nicht mit den akuten anaphylaktischen Erscheinungen am gleichen Tiere übereinstimmen. Die durch die genannten Substanzen hervorgerufenen Veränderungen im Serum können daher zur Erklärung der anaphylaktischen Giftbildung und Giftwirkung nicht herangezogen werden. Insofern es sich bei diesen Veränderungen im Serum um Absorption irgendwelcher Serum-

bestandteile mit nachträglicher Bildung giftiger Stoffe handelt, können auch die Serotoxinversuche nicht als Stütze der Adsorptionstheorie der Anaphylaxie dienen, nach welcher ein Adsorptionsvorgang im Blute als Grundlage der anaphylaktischen Giftbildung angesprochen wird.

Die Wirkung des nach Jobling und Petersen angesäuerten, durch Berkefeld mehrere Male filtrierten und dann

bis zur vollen Klärung scharf zentrifugierten Serums wird durch Fig. 10 erläutert.

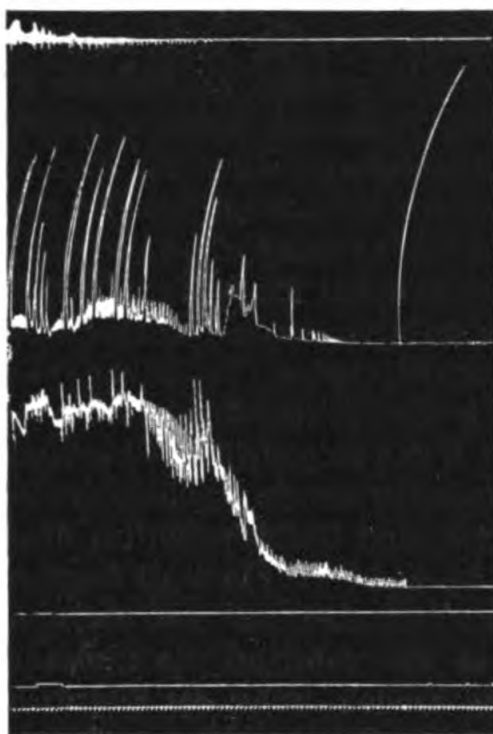


Fig. 10. Meerschweinchen 208, Gewicht 340 g. Hirudin. Bezeichnung wie in Fig. 1. Untere Marke 4 ccm angesäuertes, durch Berkefeld filtriertes Serum intravenös. Künstliche Ventilation bei Hubhöhe 2.

5 ccm Defibrinierungsserum vom Meerschweinchen werden mit Essigsäure schwach angesäuert, 3mal durch Berkefeld filtriert und dann 1 Stunde zentrifugiert; 4 ccm davon werden einem hirudinisierten Meerschweinchen No. 208, Gewicht 340 g, am 16. II. 1918 intravenös injiziert. Blutdruck- und Atemkurve (Fig. 10) bieten das Bild einer allmählichen Erstickung, die durch fortschreitendes Lungenödem bedingt wurde, das sich anfänglich nur in spärlichen blutig-schaumigen Blasen, später in einer innerhalb der Trachea und Trachealkanüle aufsteigenden blutig-schaumigen Flüssigkeitssäule dokumentierte. Die künstliche Ventilation gelang bereits bei Hubhöhe 2 des Respirationsapparates.

Bei der Sektion fehlt die charakteristische Hyperämie im Splanchnicusgebiete, die Lungen sind teigig-weich, etwas geschwellt und hochgradig ödematös und hyperämisch, stellenweise blutig suffundiert bzw. mit Blutflecken durchsetzt.

Es liegt also bei der Wirkung des angesäuerten Serums beim Meerschweinchen ein Erstickungstod durch ein hoch-

gradiges akutes Lungenödem vor, der mit dem akuten anaphylaktischen Shocktode nur äußere, formale Aehnlichkeiten darbietet. Es erscheint auch bemerkenswert, daß die Erscheinungen nach der Injektion von Chloroform- und Aether-serum einerseits und dem angesäuerten Serum andererseits nicht gleichartig sind, während die Giftwirkung der drei Sera nach Jobling und Petersen auf der gleichen Grundlage (Serotoxin) beruhen soll.

Das jodierte Serum wurde genau nach den Angaben von v. Dungern und Hirschfeld¹⁾ hergestellt und der Jodjodkalizusatz so lange fortgesetzt, bis das Serum nach längerem Stehen bei 45° freies Jod nicht mehr enthielt, worauf nach kurzer Zeit ein feiner Niederschlag in dem Serum entstand, der nach Zusatz einer Spur $\frac{1}{10}$ n. NaOH in Lösung übergang. Der Jodzusatz wurde dann abgebrochen und das Serum 20–24 Stunden bei 37° stehen gelassen.

Drei mit verschiedenen, auf diese Weise hergestellten Jodseris durchgeführte Versuche an Meerschweinchen ergaben keinerlei Andeutung einer anaphylaktischen oder anaphylaktoiden Giftwirkung, es trat nur eine vorübergehende Blutdrucksenkung ein, die in einem Versuche fehlte, sowie kurze Atemunruhe und in einem Falle vorübergehende Atemverlangsamung, im übrigen blieben die Tiere völlig normal und konnten anderweitig verwendet werden.

Ich bin demnach nicht in der Lage, die Angabe von Jobling und Petersen bestätigen zu können, daß das nach v. Dungern und Hirschfeld hergestellte Jodserum bei Meerschweinchen typischen anaphylaktischen Shock verursacht. Ich bemerke, daß die Jodierung von mir stets am Meerschweinchenserum vorgenommen und die Giftigkeit am homologen Normaltier geprüft wurde.

II. Die mechanische Theorie des anaphylaktischen Shockes.

a) Versuche mit eiweißfreier Stärke.

Die mechanische Auffassung des anaphylaktischen Prozesses als einer an den Organzellen in vivo sich abspielenden

1) a. a. O.

Präzipitinreaktion geht auf ältere Versuche zurück, welche sich mit den Beziehungen der Präzipitinreaktion zur Anaphylaxie beschäftigen. Die grobmechanische Auffassung, daß intravital entstehende Präzipitate beim Zusammentreffen von Eiweiß und Antieiß das auslösende Moment für die anaphylaktischen Symptome bilden, wurde zwar von vornherein abgelehnt [Hamburger und Moro¹⁾], das Wesen der anaphylaktischen Reaktion vielmehr in sessile Rezeptoren der Zellen und in eine an diesen vor sich gehende und als eine Vergiftung gedeutete Präzipitinreaktion verlegt [Friedberger²⁾, Doerr und Ruß³⁾ u. a.], wobei der anaphylaktische Antikörper mit dem Präzipitin identifiziert wurde und die bei der Einwirkung von Antikörper und Eiweißantigen in vitro gebildeten Präzipitate als giftig mit anaphylaktischen Symptomen an Normaltieren befunden wurden [Doerr und Ruß⁴⁾, Doerr und Moldovan⁵⁾ u. a.].

Als aber Friedberger⁶⁾ der Nachweis gelang, daß auch das vom Präzipitate abgegossene und von ihm befreite Serum typische anaphylaktische Giftwirkungen besitzt, die auf Anwesenheit eines gelösten, als Anaphylatoxin bezeichneten Giftes bezogen wurden, da trat die Beziehung des anaphylaktischen Prozesses zu dem mechanischen Moment der Niederschlagsbildung an den Zellen mehr in den Hintergrund.

Die mechanische Theorie der Anaphylaxie findet aber, in Anlehnung an die Angaben von Doerr⁷⁾, immer wieder Vertreter. So hat v. Behring⁸⁾ angegeben, daß das primum movens im anaphylaktischen Vergiftungsbild eine Agglutination der Blutplättchen mit einer nachfolgenden Plättchenlösung ist als Ausdruck einer Aktivierung von Gerinnungsvorgängen im Blute. Die akuten (cerebralen) Vergiftungserscheinungen im

1) Hamburger und Moro, Wiener klin. Wochenschr., 1905, No. 15; Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 4, 1910, p. 556.

2) Friedberger, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2, 1909, p. 208.

3) Doerr und Ruß, ebenda, Bd. 3, 1909, p. 181.

4) l. c.

5) Doerr und Moldovan, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 5, 1910, p. 125, 161.

6) Friedberger, ebenda, Bd. 4, 1910, p. 636; Bd. 7, 1910, p. 94.

7) a. a. O.

8) v. Behring, Deutsche med. Wochenschr., 1914, No. 42.

akuten Shock werden von v. Behring geradezu auf Plättchen-thromben in den Hirngefäßen zurückgeführt. Diese auf physikalischen Vorgängen im Blute beruhende mechanische Auffassung v. Behrings steht aber mit der Beobachtung im Widerspruche, daß auch nach Ausschaltung jeglichen Gerinnungsvorganges bei Meerschweinchen durch Hirudin der Eintritt des akuten anaphylaktischen Shocks nicht beeinträchtigt wird [Friedberger¹⁾, Loewit²⁾], daß ferner auch nach Entfernung des Großhirnes und der basalen Hirnteile der anaphylaktische Shock noch ausgelöst werden kann [Schürer und Straßmann³⁾], und daß endlich bei Untersuchung des Blutes aus den Hirn- und Mesenterialgefäßen zahlreicher im akuten anaphylaktischen Shock eingegangener Meerschweinchen eine irgendwie gegenüber der Norm beträchtlichere Anhäufung von Blutplättchen in Form agglutinierter Haufen von mir nicht gefunden wurde.

In letzter Zeit ist die mechanische Entstehung des anaphylaktischen Shocks durch P. Schmidt⁴⁾ neuerdings durch den Nachweis aufgefrischt worden, daß Meerschweinchenserum auch durch eiweißfreie, bzw. praktisch eiweißfreie Stärke giftig wird und am Normaltier die Symptome des akuten anaphylaktischen Shocks hervorruft. Da nun diese Giftwirkung durch Zentrifugieren nicht entfernt, andererseits aber durch intraperitoneale Injektion, sowie nach Filtration durch Berkefeldfilter nicht erzielt werden kann, so hält Schmidt feinst suspendierte Stärketeilchen für das auslösende Moment des anaphylaktischen Shocks, die auch als Gefäßthromben in den Lungen der eingegangenen Tiere nachgewiesen werden konnten. Durch Verallgemeinerung dieses Befundes gelangt Schmidt zu der Auffassung, daß auf alle elektrisch negativ geladenen Kolloide (einschließlich Bakterien) eine besonders leicht fällbare Quote der Globulinfraction besonders im aktiven Serum niedergeschlagen wird, die dann eine Art Keimzentrum bildet,

1) Friedberger, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 4, 1910, p. 684.

2) Loewit, Arch. f. exper. Pathol. usw., Bd. 68, 1912, p. 83; Bd. 77, 1914, p. 186.

3) Schürer und Straßmann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 12, 1912, p. 143.

4) P. Schmidt, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr., Bd. 83, 1917, p. 89.

an welche fortgesetzte Neuanlagerungen stattfinden. Es werden sich also die Kleisterteilchen im Serum mit Globulinen besetzen, die von den Kapillaren adsorbiert werden und zur Anlagerung weiterer Globulinteilchen bzw. Blutplättchen, Leukocyten und Fibrin Veranlassung geben. Auf diese Weise entstehen Stauungszustände mit konsekutiver Hyperämie, Lungenödem, Lungenschwellung und Dyspnoë als die wichtigsten anaphylaktischen Symptome. Lungenblähung und Bronchospasmus werden, soweit sie vorkommen, auf die hochgradige Blutstauung und das konsekutive Oedem zurückgeführt, die für sich allein eine Verschließung der zarten Bronchiolen beim Meerschweinchen verständlich machen. Dem initialen Bronchospasmus wird dementsprechend eine wesentliche Rolle nicht zugeschrieben.

Auf eine Kritik dieser Auffassung kann um so eher verzichtet werden, als eine solche in eingehender Weise durch Friedberger und Joachimoglu¹⁾ geliefert wurde, der ich mich in allen wesentlichen Punkten vollkommen anschließen kann. Namentlich kann ich bestätigen, daß Meerschweinchen-serum + 10-proz. Kleisterzusatz von eiweißarmer Stärke²⁾ nach so lange fortgeführtem Zentrifugieren auf der früher genannten Zentrifuge, bis im Bodensatz mikroskopisch ein Stärkenachweis nicht mehr gelingt, sich bei Normalmeerschweinchen ebenso ungiftig wie das früher erwähnte auszentrifugierte Kaolinserum erweist. Die Giftwirkung des Schmidtschen Stärkeserums ist daher, wie schon Friedberger und Joachimoglu hervorgehoben haben, nicht auf ein Gift im Serum, sondern auf nicht genügend entfernte Partikelchen von Stärkekleister zurückzuführen³⁾.

Es erschien aber wichtig, zu erfahren, ob die Wirkung eines nach P. Schmidt hergestellten Stärkeserums beim Meer-

1) Friedberger und Joachimoglu, *Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr.*, Bd. 84, 1917, p. 336.

2) Herr Dr. Klopfer, Dresden-Leubnitz, hatte die große Freundlichkeit, mir eine Portion eiweißarmer Stärke zu überlassen, wofür ich auch an dieser Stelle meinen verbindlichen Dank sage.

3) Zusatz bei der Korrektur: Auf die letzte Mitteilung von Ritz und Sachs (*Zeitschr. f. Hyg. usw.*, Bd. 86, 1918, p. 235), die sich mit der Anaphylatoxinbildung aus Stärke beschäftigt, kann an dieser Stelle nicht mehr eingegangen werden.

schweinchen unter Berücksichtigung der im vorausgehenden erörterten Gesichtspunkte eine Identifizierung mit den Erscheinungen des akuten anaphylaktischen Shocks gestattet. Von den nach dieser Richtung hin ausgeführten Versuchen sei hier nur ein prägnantes Beispiel angeführt.

Am 9. II. 1918 erhält das hirudinisierte Meerschweinchen No. 206, Gewicht 360 g, intravenös im ganzen 6 ccm eines Stärkeserums, das folgendermaßen hergestellt war: 7 ccm Defibrinierungsserum eines 520 g schweren Meerschweinchens werden mit 1 ccm 10-proz. Stärkekleister nach Klopfer versetzt, bleiben 1 Stunde bei 37° stehen und werden dann 10 Minuten scharf zentrifugiert. Das abgehobene Serum ist klar und läßt im Sediment mikroskopisch nach Jodzusatz noch kleine Stärkekörnchen erkennen, größere Teilchen fehlen. Gleich nach der Injektion (Fig. 11) ist eine deutliche Blutdrucksteigerung wahrscheinlich als Folge der Atemunruhe mit darauf folgenden, mit Blutdrucksenkung einhergehenden und lange anhaltenden Vaguspulsen kenntlich. Unter allmählicher Verkleinerung der Herzkontraktionen sinkt der Blutdruck langsam nahe zur Nulllinie ab, und schließlich tritt Gerinnung in der Manometerkanüle ein.

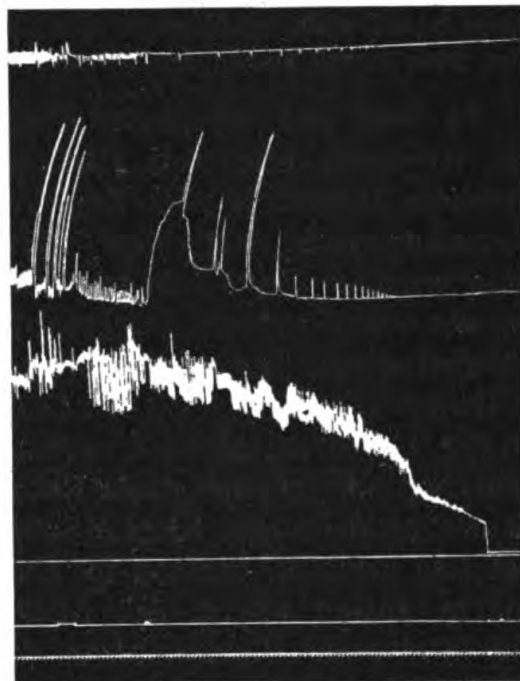


Fig. 11. Meerschweinchen 206, Gewicht 370 g. Hirudin. Bezeichnung wie in Fig. 1. Untere Marke 5 ccm und 1 ccm Stärkeserum intravenös. Künstliche Ventilation bei Hubhöhe 1.

Die Atmung läßt mit Beendigung der Injektion eine Verflachung und Verlangsamung in Expirationsstellung und hierauf eine Reihe verlangsamter Respirationen in Mittellage mit einzelnen vertieften In- und Expirationen erkennen. Hierauf erscheinen krampfartige In- und Expirationen mit verlängerten expiratorischen Pausen, worauf sich bald die terminalen Respirationen anschließen, die bis zum Schluß in der Trachealkurve kenntlich sind. Nach Aufhören der spontanen Atmung ist die künstliche Ventilation bereits bei Hubhöhe 1 des Apparates (Kurve Th) zu erzielen.

Die sofort vorgenommene Sektion ergibt vollständige Blutgerinnung in der Vena cava sup., der Jugular- und Subclaviavene, im rechten Herzen besteht teilweise Gerinnung, dagegen ist das Blut im linken Herzen und in der Vena cava inf. vollständig flüssig. Der Herzmuskel ist stark blutig suffundiert, im Pericard viel blutig-seröse Flüssigkeit. Die Lungen sind leicht hyperämisch, mit zahlreichen Blutpunkten durchsetzt, schwach gedunsen und teigig anzufühlen; am Schnitt schwaches Oedem. Mikroskopisch konnten in einzelnen kleinen septalen Gefäßen kleinere, meist isoliert liegende Stärketeilchen nachgewiesen werden, die sich auch in den zerstreut liegenden Blutungsherden vorfanden. Eine emphysematische Erweiterung der Lungenalveolen liegt nicht vor, eine irgendwie stärkere Fältelung der Bronchiolenschleimhaut und Verschließung des Bronchiolumens besteht nicht. Stellenweise sind Blutungen und ein geringes Transsudat peribronchial und in den Alveolen zu erkennen.

Es liegt also ein akuter Shock durch das Stärkeserum vor, der durch eine trotz Hirudin erfolgte intravitale, ausgebreitete Thrombose zum Erstickungstode ohne hochgradige Lungenhyperämie und ohne stärkeres Lungenödem führt. Diese letzteren Erscheinungen traten in anderen Versuchen ein, wenn noch gröbere Stärkepartikelchen im Serum zurückgeblieben waren. Die gleichen Vergiftungserscheinungen waren in Uebereinstimmung mit Friedberger und Joachimoglu¹⁾ auch nachweisbar, wenn inaktiviertes Meerschweinchen Serum oder physiologische Kochsalzlösung zur Digerierung mit der verkleisterten Klopfer-Stärke verwendet wurden. Es liegt also keine Giftwirkung im pharmakologischen Sinne vor, sondern analog wie in den Kaolinversuchen wahrscheinlich eine intravasale Blutgerinnung, die sich auch auf größere Gefäßbezirke ausdehnen kann, und die wahrscheinlich auch hier als eine Fremdkörperthrombose (um Stärketeilchen herum) aufzufassen ist. Gerade dieser Umstand gestattet es nicht, den Stärkekleistershock mit dem akuten anaphylaktischen Eiweißshock zu identifizieren, da im letzteren Falle auch am nicht hirudinisierten Tiere niemals eine intravitale Gerinnung, vielmehr eine Gerinnungsverzögerung zu konstatieren ist. Neben dieser intravasalen Thrombose kann auch, je nach der Anwesenheit feinerer oder gröberer Stärketeilchen im injizierten Serum, eine Verlegung kleinerer oder größerer Lungengefäße durch Stärketeilchen an der Auslösung der Atmungsstörungen

1) l. c. p. 350, 355.

im Stärkekleistershock beteiligt sein. Auf Grund dieser Umstände kann also auch der Stärkekleistershock nicht als eine Stütze der Adsorptionstheorie und der mechanischen Entstehung des akuten anaphylaktischen Shockes angesprochen werden.

P. Schmidt¹⁾ macht die hochgradige Lungenhyperämie mit dem konsekutiven Lungenödem im Gefolge der Stärkeseruminjektion verantwortlich für einen teilweisen oder vollständigen Verschuß des Lumens der zarten Bronchiolen und führt darauf, nicht aber auf den initialen Bronchospasmus, die Entstehung der Lungenblähung beim anaphylaktischen Shock zurück. Ich habe aber ein beträchtlicheres Lungenödem mit starker Lungenhyperämie bei Anwendung des Stärkekleisterserums beim Meerschweinchen nur dann eintreten gesehen, wenn infolge kurzen Auszentrifugierens noch größere Stärketeilchen im Serum nachweisbar waren. Wurde aber so lange zentrifugiert, bis im Bodensatze des klaren Serums nur mehr wenige mikroskopisch sichtbare Kleisterpartikelchen wahrnehmbar waren, so trat nach der intravenösen Injektion entweder gar kein oder nur ein sehr geringgradiges feinschaumiges Lungenödem ein. Nach meinen Erfahrungen besteht aber ein wesentlicher Unterschied zwischen einem durch Lungenhyperämie und hochgradiges Lungenödem und einem durch Bronchospasmus bedingten Atemhindernis, der für die Beurteilung des Atemtodes beim akuten anaphylaktischen Shock von Belang ist.

Gelegentlich einer Untersuchungsreihe über die Wirkung einzelner Amine bei Meerschweinchen, auf die bei einer anderen Gelegenheit zurückzukommen sein wird, zeigte es sich, daß manche derselben in ganz hervorragendem Grade befähigt sind, ein so mächtiges akutes Lungenödem²⁾ hervorzurufen, daß im Anschlusse an die Injektion eine in der Trachea aufsteigende blutig-seröse Flüssigkeitssäule zustande kommt und die Tiere an akuter Erstickung unter Erscheinungen zugrunde gehen, die eine gewisse Aehnlichkeit mit dem akuten anaphylaktischen Shock darbieten (Fig. 10, 12). Namentlich fällt die hochgradige expiratorische Dyspnoë, die Atemkrämpfe der Brust- und Bauchmuskulatur (*Th* in Fig. 12), sowie das Verschwinden der Trachealatmung (*Tr*) bei bestehender Bauchatmung

1) l. c. p. 104 f.

2) Vgl. Heß und Müller, Zeitschr. f. exper. Pathol. usw., Bd. 17, 1914, p. 59.

auf. Nach Erlöschen der Spontanatmung kann bereits bei Hubhöhe 3 des Respirationsapparates die künstliche Ventilation erzielt werden; die hochgradige, durch das intensive Lungenödem bedingte Flüssigkeitsansammlung in den Lungen ist also für die künstliche Ventilation kein wesentliches Atemhindernis, wie der Bronchospasmus in den Fällen des akuten anaphylaktischen Eiweißshockes. Die Untersuchung der Lungen ergibt hochgradige Hyperämie mit zahlreichen punkt- oder flächenhaften Blutungen im Gewebe und intensives feinschaumiges Oedem in den Bronchiolen und Alveolen. Eine Vergrößerung des Lungenvolumens ist in geringem Grade,

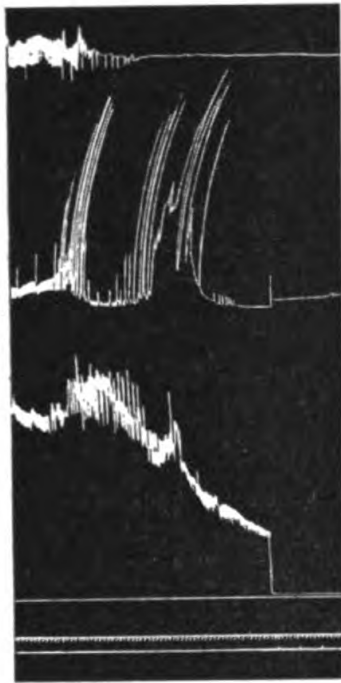


Fig. 12. Meerschweinchen 161, Gewicht 460 g. Hirudin. Bezeichnung wie in Fig. 1. Untere Marke 0,02 g p-Oxyphenyläthylamin in 3 ccm H₂O intravenös. Künstliche Ventilation bei Hubhöhe 3.

namentlich in den beiden Unterlappen vorhanden, die Lungen fühlen sich teigig-weich an, die polsterförmige Schwellung der Lungen mit dem charakteristischen elastischen Widerstande bei Fingerdruck und das knirschende Geräusch für das schneidende Messer fehlen vollständig, Erscheinungen, die gerade der anaphylaktischen Lungenschwellung in hervorragendem Maße zukommen.

Lungenhyperämie und ein noch so intensives Lungenödem für sich allein genügen also beim Meerschweinchen nicht, wie P. Schmidt anzunehmen geneigt ist, für die Entstehung der Lungenblähung beim akuten anaphylaktischen Shock; Lungenhyperämie für sich allein gibt auch nach den Versuchen von E. Weber¹⁾ niemals zur Entstehung einer Lungenblähung Veranlassung, die für gewisse Arten des anaphylaktischen Shockes beim Meerschweinchen (erster Typus) so charakteristisch

ist und sich in diesen Fällen nur auf Grundlage eines Bronchospasmus entwickeln kann. Lungenhyperämie und Lungenödem können bei gewissen Formen des akuten anaphylaktischen Shockes des Meerschweinchens (zweiter Typus) für sich allein ohne Bronchospasmus vorhanden sein, dann ist

1) E. Weber, Arch. f. Physiol., 1914, p. 63.

zwar je nach ihrer Intensität ein gewisser Grad von volumen pulmonum auctum nachweisbar, der aber nicht, wie im ersten Falle, durch Alveolarektasie infolge vermehrten Luftgehaltes, sondern durch vermehrte Blutfüllung der Lungengefäße, sowie durch Ablagerung von Transsudat (Oedem) in den Lungen bedingt ist. In Uebereinstimmung mit dem eben Angeführten fehlt in solchen Fällen regelmäßig eine echte Lungenblähung. Darin und in dem oben erwähnten differenten Verhalten gegen die Einleitung der künstlichen Ventilation ist der Unterschied gegeben zwischen einem durch Lungenhyperämie und hochgradiges Lungenödem und einem durch Bronchospasmus bedingten Atemhindernis, der sich bei den beiden Typen des akuten anaphylaktischen Shocks beim Meerschweinchen, wahrscheinlich im Zusammenhange mit einer verschiedenen Giftbildung, geltend macht. Eine dem anaphylaktischen Shock entsprechende Lungenblähung ist in meinen Versuchen beim Stärkekleistershock niemals aufgetreten.

b) Versuche mit Schüttelserum.

Eine Reihe von Autoren [Jacoby und Schütze¹⁾, Ritz²⁾, Schmidt und Liebers³⁾, Hirschfeld und Klinger⁴⁾ u. a. m.] führen an, daß beim Schütteln verdünnter Sera schon bei Zimmertemperatur, noch besser bei Brutschranktemperatur, eine mit Komplementschwund einhergehende Trübung des Serums zustande kommt, die auf einer Ausflockung der Serumglobuline beruht. Diese Fällung wurde auf eine Aenderung des Dispersitätsgrades der Globuline bezogen und als Labilisierung der Serumglobuline bezeichnet [Hirschfeld und Klinger⁵⁾].

Hirschfeld und Klinger⁶⁾ haben gezeigt, daß die durch das Schütteln bedingte Aenderung des physikalischen Zustandes

1) Jacoby und Schütze, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 4, 1910, p. 730.

2) Ritz, ebenda, Bd. 15, 1912, p. 145.

3) Schmidt und Liebers, ebenda, Bd. 19, 1913, p. 373.

4) Hirschfeld und Klinger, ebenda, Bd. 21, 1914, p. 40.

5) a. a. O.

6) a. a. O. p. 71 f.

des Serums mit dem Auftreten einer positiven Wassermannschen Reaktion einhergehen kann, und sie vermuten, „daß es ein bestimmter Grad von Globulinfällung sei, welcher die (Serum-)Giftigkeit bedingt, und daß es vielleicht gelingen würde, auch ohne Zusatz irgendwelcher körperfremder Substanzen, bloß durch Globulinwirkung Serum giftig zu machen“. Dabei handelt es sich wahrscheinlich um ein ganz bestimmtes intermediäres Stadium der erwähnten Serumveränderung, das ein an sich wirksames protoplasmatisches Gift (das Anaphylatoxin) bedingt, das aber nicht mit allen Mitteln, die zur Globulinfällung führen, hervorzurufen und zu fixieren gelingt.

Nähere Angaben über die Giftwirkung des Schüttelserums werden von Hirschfeld und Klinger nicht angeführt, es wird nur hervorgehoben, daß eine Berücksichtigung der physikalischen Aenderungen, welche das Serum durch Einwirkung bestimmter Substanzen erleidet, für eine künftige Theorie der Anaphylatoxinbildung viel mehr zu versprechen scheint, als eine ausschließliche Betonung der Veränderungen, welche die dem Serum zugesetzten Substanzen selbst erleiden. Ich habe mich deshalb bemüht, die Giftwirkungen des Schüttelserums vom Meerschweinchen am homologen Tier zu prüfen, habe aber bei der intravasalen Injektion solcher unverdünnter und verschiedentlich verdünnter Sera in Mengen von 1—3 ccm in vier Fällen nur vorübergehende Blutdruckschwankungen und Atemverlangsamung erzielt; in zwei in der gleichen Weise ausgeführten Versuchen trat eine shockartige tödliche Wirkung ein¹⁾, die bei der Sektion auf eine primäre intravitale Throm-

1) Die auf diese Weise geschüttelten bzw. 3—4 Stunden zentrifugierten Meerschweinensera ließen in der Regel eine leichte, staubförmige Trübung durch einen sehr fein verteilten Niederschlag erkennen, der in Spitzgläschen beim Zentrifugieren in dünner Schicht abgesetzt und nach seiner Löslichkeit in 5—10-proz. Kochsalzlösung als ausgefälltes Globulin erkannt wurde. Trotzdem also in diesen Fällen ein Teil des Serumglobulins aus dem Serum entfernt, mithin eine Labilisierung der Serumglobuline wohl eingetreten war, erwiesen sich die überstehenden klaren Sera, mit Ausnahme der beiden Fälle mit intravasaler Blutgerinnung, doch nach der intravenösen Injektion als ungiftig.

bose in ausgedehnten Gefäßgebieten mit Einschluß des Herzens, ähnlich wie bei der intravitalen Kaolininjektion, zurückgeführt werden konnte. Wenn also eine tödliche Wirkung des Schüttelserums von Meerschweinchen zustande kommt, so handelt es sich dabei nicht um einen auf anaphylaktischer Giftwirkung beruhenden Shock, sondern allenfalls um eine tödliche, auf intensiver intravasaler Gerinnung beruhende Shockwirkung. Es sei betont, daß diese intravitale hochgradige Gerinnung als Schlußwirkung bei der Injektion der kleinsten Dosen des Schüttelserums eintritt, die nur eben merkliche Veränderungen der Blutdruck- und Atemkurven hervorrufen. Allerdings bezieht sich dieser Befund ausschließlich auf Meerschweinchen-serum, von welchem auch Hirschfeld und Klinger¹⁾ angeben, daß es zu derartigen Studien über Anaphylatoxinbildung wenig geeignet ist, was immerhin auffällig ist, da gerade das Meerschweinchen-serum durch verschiedenartige Eingriffe besonders leicht giftig (für Meerschweinchen) gemacht werden kann.

Ich habe daher auch einige diesbezügliche Versuche mit Pferdeserum durchgeführt, das an und für sich in Dosen bis zu 4 ccm intravasal für Meerschweinchen primär ungiftig ist. In verschiedenen Verdünnungen (1:3, 1:5, 1:10 NaCl) zeigte das Pferdeserum, 3 bzw. 5 Stunden bei Brutschrank- bzw. bei Zimmertemperatur geschüttelt, nach intravasaler Injektion bei Meerschweinchen nur eine kurzdauernde Verflachung und Verlangsamung der Atmung. Ebenso wirkungslos erwiesen sich Verdünnungen des Pferdeserums mit Wasser in verschiedenen Abstufungen nach einer 3- bis 5-stündigen Schütteldauer bei Brutschrank- bzw. Zimmertemperatur. Es erscheint demnach vorläufig nicht erwiesen, daß primär ungiftige Sera durch Schütteln allein eine auf Anaphylatoxinwirkung beruhende Giftigkeit für Meerschweinchen erlangen können.

In einer neueren Arbeit über Immunitätsreaktionen beschäftigen sich Hirschfeld und Klinger²⁾ sehr eingehend mit dem Anaphylaxieproblem und halten an der mechanischen

1) a. a. O. p. 73.

2) Hirschfeld und Klinger, Biochem. Zeitschr., Bd. 85, 1918, p. 27.

Auffassung der Shockentstehung fest, ohne aber neue Beweise nach dieser Richtung beizubringen. Es unterliegt für Hirschfeld und Klinger keinem Zweifel, daß der fällende und shockauslösende Antikörper identisch sind. Wenn im Serum shockempfindlicher Tiere sichtbare Präzipitate nicht auftreten und die Stärke dieser Reaktion nicht immer der Shockempfindlichkeit genau entspricht, so wird das auf andere optimale Bedingungen der Reaktionen in vivo und in vitro zurückgeführt. Ein direkter Beweis dieser Auffassung ist aber damit nicht geliefert.

Wenn aber Hirschfeld und Klinger¹⁾ hervorheben, daß in dem gelösten Friedbergerschen Anaphylatoxin nicht mehr abzentrifugierbare Teilchen zurückbleiben, die durch Antigeneinwirkung zwar nicht bis zur abzentrifugierbaren Stufe gebracht, aber doch durch teilweise Zusammenlagerung gröber dispers gemacht wurden und im Blute infolge ihres labilen Gleichgewichtes, ähnlich wie entstehende Antigen-Antikörperfällungen, andere Globulinpartikelchen, vielleicht unter Einbeziehung der Plättchen usw., adsorbieren und, mit ihnen verklebt, die Lungengefäße verlegen, so ist demgegenüber zu betonen, daß, soweit es sich dabei um eine morphologisch nachweisbare Verlegung der Lungengefäße in typisch anaphylaktischen Shocklungen durch Plättchen-, Leukocyten- und gemischte Thromben handelt, eine derartige Verklumpung von mir in Schnitt- und Ausstrichserien ebensowenig wie in Normallungen nachgewiesen werden konnte. Es ist also auch diese Deutung über die Wirkungsweise des Anaphylatoxins durch die Beobachtung nicht sichergestellt worden. Die mechanische Theorie des anaphylaktischen Shockes kann mithin gegenwärtig ebensowenig wie die Absorptionstheorie als erwiesen angesehen werden.

Zusammenfassung.

1) Es werden zwei Formen des akuten anaphylaktischen Shockes beim Meerschweinchen unterschieden: die eine geht

1) a. a. O. p. 36.

mit Bronchospasmus und dadurch bedingter Lungenblähung einher, die in der Regel zur Erstickung führen; bei der anderen fehlen diese Veränderungen, die Tiere gehen durch periphere oder zentrale Atemlähmung zugrunde, die oft von mehr oder minder hochgradigem Lungenödem und Lungenhyperämie mit mehr oder minder deutlichem volumen pulmonum auctum begleitet ist.

2) Das völlig auszentrifugierte Kaolinserum von Meerschweinchen erwies sich bei intravasaler Injektion am homologen Tiere ungiftig. Die angebliche Giftigkeit des Kaolinserums kann auf nicht genügend abzentrifugierte Kaolinreste, nicht aber auf eine Giftbildung in diesem Serum zurückgeführt werden. Die tödliche Wirkung des dem lebenden Meerschweinchen intravasal injizierten Kaolins ist durch mehr oder weniger ausgedehnte intravasale (Fremdkörper-) Thrombose bedingt, die durch Hirudin nicht verhindert wird.

3) Die tödliche Wirkung des Meerschweinchenserums nach der Chloroform- bzw. Aetherbehandlung ist in der Regel durch intravasale Thrombose bedingt, die in einzelnen Fällen nicht zustande kommt.

4) Das jodierte Meerschweinchenserum ergibt keine Andeutung einer anaphylaktischen Giftwirkung; das angesäuerte und durch Berkefeld filtrierte Meerschweinchenserum tötet Meerschweinchen durch langsame, mit hochgradigem Lungenödem einhergehende Erstickung.

5) Das mit eiweißfreier (Klopfer) Stärke behandelte Meerschweinchenserum bewirkt nach völliger Abzentrifugierung der Stärketeilchen keine Giftwirkung, eine Giftbildung kommt in demselben nicht zustande. Nicht genügend entfernte Stärketeilchen im Serum können nach intravasaler Injektion des Serums Thrombose durch Blutgerinnung in peripheren Gefäßen bzw. Verlegung einzelner Lungengefäße hervorrufen.

6) Lange geschütteltes Meerschweinchen- und Pferdeserum rufen für sich allein nach intravasaler Injektion bei Meerschweinchen keinerlei wesentliche Veränderungen des Blutdruckes und der Atmung hervor.

7) Der Nachweis von Plättchen- oder Leukocyenthromben in den Lungengefäßen der im anaphylaktischen Shock eingegangenen Meerschweinchen konnte nicht erbracht werden; auch in den Hirn- und Mesenterialgefäßen waren in diesen Fällen nur kleine Plättchenhaufen (3—6 Plättchen vereinigt) nachweisbar.

8) Die Absorptions- und die mechanische Theorie des anaphylaktischen Shocks kann nicht als erwiesen angesehen werden. (G. C.)

Nachdruck verboten.

[Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie
Berlin-Dahlem (Direktor: Geheimer Medizinalrat Professor
Dr. A. v. Wassermann).]

**Beiträge zur Lehre von der Hämagglutination und
Hämolyse.**

Von Dr. S. Bergel, wissenschaftlichem Mitarbeiter.

Mit 1 Tafel.

(Eingegangen bei der Redaktion am 14. März 1918.)

Wenn auch durch die grundlegenden Untersuchungen Ehrlichs und seiner Mitarbeiter gute allgemeine Vorstellungen über den Mechanismus und das Zustandekommen der Hämagglutination und der Hämolyse ermöglicht wurden, so sind doch positive Kenntnisse und ein wirkliches Verständnis des biologischen Geschehens bei diesen Prozessen nur in geringem Maße gewonnen worden. Die allermeisten Fragen sind weiter ungelöste Rätsel geblieben und harren noch so lange einer genügenden Beantwortung, bis sie sich auf physikalisch-chemische Gesetze, auf bekannte Tatsachen und begründete Erfahrungen zurückführen lassen. Insbesondere sind es folgende Punkte, von deren experimentell gesicherter Feststellung ein eigentliches Verständnis der bei der Hämagglutination und der Hämolyse sich abspielenden Vorgänge abhängt. Wir sind noch im unklaren darüber, welche Substanz überhaupt als Antigen wirkt, wir wissen nicht, woher die Antikörper stammen, welcher Art der Prozeß der Antikörperbildung ist, und in welcher Weise sie wirken. Ferner ist das Phänomen der spezifischen Einstellung der Antikörper auf das Antigen ein vollkommen rätselhaftes, dessen Erkenntnis nicht bloß für diese Vorgänge, sondern auch für die Immunitätsforschung überhaupt sehr wichtig und bedeutungsvoll wäre. Die folgenden Untersuchungen sollen zu diesen Fragen Beiträge liefern, es soll versucht werden, das Wesen und den Ursprung der Hämagglutination und der

hämolytischen Erscheinungen sowie die Entstehung der Spezifität unserem Verständnis näher zu bringen ¹⁾. Als ein sehr geeignetes Versuchstier erwies sich die weiße Maus. Die zweckmäßigste Art der Vorbehandlung ist die intraperitoneale, um am Orte der Entstehung den Ablauf der einzelnen Phasen der Hämagglutination und der Hämolyse in einer geschlossenen Körperhöhle der systematischen direkten Beobachtung zugänglich machen zu können.

Wenn einer weißen Maus $\frac{1}{2}$ ccm 5-proz. Hammelblutes, das meist benutzt wurde, oder auch Rinder-, Meerschweinchen- oder Kaninchenblut in die Bauchhöhle eingespritzt wird, so bildet sich als Reaktion darauf nach etlichen Stunden ein seröser Erguß und eine Leukocytose, und zwar tritt zuerst eine Vermehrung der polymorphkernigen weißen Blutkörperchen ein, aber schon nach 20—24 Stunden sind die einkernigen, ungranulierten basophilen Zellen, meist vom Typus der großen Lymphocyten, beträchtlich vermehrt und von da ab bei weitem in der Uebersahl. Ob alle diese Zellen nur hämatogenen oder auch anderen Ursprunges sind, bleibe zunächst dahingestellt; funktionell sind sie gleichgeartet. Wie man bei der Entnahme eines Tropfens Bauchhöhlenflüssigkeit mittels einer Kapillarröhre und Untersuchung auf dem Objektträger feststellen kann, sind in den ersten 16—18 Stunden die roten und weißen Blutkörperchen auch mikroskopisch gleichmäßig miteinander vermischt und lassen kaum eine Einwirkung aufeinander erkennen. Gefärbt wurde fast ausschließlich nach Giemsa. Etwa 24 Stunden nach der ersten Injektion sieht man unter dem Mikroskop, daß rote Blutkörperchen sich den einkernigen weißen anlagern, oft sind diese bereits zur Hälfte, und in den nächsten Stunden vollständig von den roten wie von einem Kranz umlagert, sie werden dann in das Zellinnere der einkernigen weißen aufgenommen und in dem Zelleibe allmählich verdaut. Die kranzförmige Umlagerung und Phagocytose ist in der nächsten Zeit noch deutlicher und ausgesprochener unter dem Mikroskope nachweisbar. Die roten Blutkörperchen werden von der Bauchhöhle

1) Die Untersuchungen sind teilweise schon früher von mir begonnen (Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Ther., Bd. 14, H. 3, u. Bd. 17, H. 2), im Institut aber ganz von neuem aufgenommen, durch eine große Reihe anderer vervollständigt und auf eine breitere Grundlage gestellt worden.

aus zum Teil in die Milz, in die Lymphdrüsen und in die Leber übergeführt. So gut wie ausnahmslos ist der Mittelpunkt, um den sich die Erythrocyten kreisförmig scharen, ein weißes Blutkörperchen, und zwar, wie die Färbung ergibt, ein einkerniges, ungranuliertes, basophiles; um polymorphkernige Leukocyten werden derartige Lagerungen von roten nicht beobachtet. Natürlich findet man in größeren Ballen von Leukocyten auch polynukleäre eingestreut, aber um letztere allein sieht man die Erythrocyten nicht gelagert. Wenn man einen Tropfen Bauchhöhlenflüssigkeit eines mit Hammelblut vorbehandelten Tieres auf dem Objektträger mit einem Tropfen 5-proz. Hammelblutes nach 2—3 Tagen zusammenbringt und leicht vermischt, so sieht man mikroskopisch eine schwache An- und Umlagerung der einkernigen weißen Blutkörperchen mit den herumschwimmenden Erythrocyten, eine Erscheinung, die in den nächsten 4—5 Tagen wesentlich zunimmt, so daß dann manche einkernige wie von einem dichten Kranze von roten Blutkörperchen umgeben sind. Makroskopisch sind jetzt Veränderungen noch nicht erkennbar. Das Blutserum agglutiniert um diese Zeit auch noch nicht. Wenn nach etwa 6—7 Tagen eine zweite Injektion der gleichen Blutkörperchenart vorgenommen wird, so ist in den ersten etwa 1½ Stunden eine Reaktion kaum zu merken, dann aber wird eine kurzdauernde polymorphkernige Leukocytose beobachtet, der eine schnellere und starke Zunahme der einkernigen Zellen folgt. Bereits nach 2—2½ Stunden sieht man eine oft mehrschichtige Umlagerung der lymphoiden Zellen mit Erythrocyten und eine starke Phagocytose der roten Blutkörperchen durch die einkernigen weißen, so daß diese, sehr vergrößert, mit ihnen oft vollgepfropft sind. Die Phagocytose hält etwa 1½ Tage an, nach 2 Tagen pflegt man die einkernigen weißen Zellen meist leer zu finden. Wenn am dritten Tage oder später ein Tropfen Bauchhöhlenexsudat einer zweimal mit Hammelblut vorbehandelten Maus auf dem Objektträger mit etwas Hammelblut vermischt wird, so sieht man schon viel deutlicher als nach der ersten Injektion mikroskopisch die Umlagerung der einkernigen weißen Zellen mit den roten, und zwar oft in mehrfachen Schichten übereinander, und man kann jetzt vielfach die Beobachtung machen, daß die roten Blutkörperchen,

welche noch ihre normale Gestalt beibehalten haben, an ihren Rändern mit vorüberfließenden anderen Erythrocyten, die zum Teil ebenfalls um einkernige weiße gelagert sind, fest verkleben und auch durch stärkere Bewegungen nicht mehr voneinander losgerissen werden können. Nach der dritten Injektion, nach weiteren 6—7 Tagen, tritt wieder eine, jetzt etwas kürzere Zeit anhaltende Art negativer Phase ein, dann folgt wiederum eine kurzdauernde polymorphkernige Leukocytose, der unmittelbar eine sehr starke Ansammlung einkerniger weißer Blutkörperchen folgt, die nun ihrerseits, und das ist nach der dritten Injektion besonders stark ausgesprochen, sich schnell mit mehreren Lagen von roten Blutkörperchen umkleiden, sie gierig an ihren Körper anziehen, in ihren Zelleib aufnehmen, so daß sie, die das Zweifache und noch darüber ihres gewöhnlichen Umfanges angenommen haben, vollgefüllt mit roten Blutkörperchen sind, deren Form man im Innern zunächst noch deutlich erkennen kann. Bei etwas schräger Stellung des Objektträgers beobachtet man sehr schön, wie vorüberschwimmende rote Blutkörperchen in größerer Anzahl an den die einkernigen weißen umgebenden roten kleben bleiben und auch bei stärkeren Erschütterungen nicht wieder losgerissen werden können, so daß sich auf diese Weise ziemlich schnell größere, auch makroskopisch sichtbare Häufchen bilden. Die Phagocytose hat gewöhnlich nach 1—1½ Tagen ihr Ende erreicht, und dann werden die Erscheinungen der Hämagglutination und der darauffolgenden Hämolyse sowie die noch zu besprechenden weiteren Beobachtungen in den nächsten Tagen sehr deutlich und ausgeprägt. Wenn man nämlich 2—3 Tage oder später nach der dritten Hammelblutinjektion einen Tropfen Bauchhöhlenexsudat einer weißen Maus mit etwas Hammelblut zusammenbringt, so beobachtet man unter dem Mikroskop eine sehr schnelle Umlagerung der einkernigen weißen mit den roten und zwar in mehreren Schichten; die roten Blutkörperchen werden, das sieht man ordentlich, hastig und gierig von den weißen angezogen, und nach ganz kurzer Zeit ist die Häufchenbildung so stark, daß sie auch makroskopisch ganz deutlich wahrnehmbar ist. Bei der mikroskopischen Verfolgung dieser Vorgänge sieht man nun weiter, daß zunächst in der unmittelbaren Nähe der einkernigen weißen Blutkörperchen die roten

ihre gewöhnliche, scharf konturierte Gestalt verlieren, daß sie mit den benachbarten nicht bloß an den Berührungspunkten fest verkleben, sondern sich zu einer formlosen Masse zusammenballen. Dann verklumpt der allergrößte Teil der Erythrocyten zu einer solchen gleichmäßigen Masse, in der man nur an den äußersten Teilen noch einzelne in ihrer Form erhaltene rote Blutkörperchen zu erkennen vermag; weiterhin schmelzen diese formlosen Massen wie Wachskügelchen zusammen, um sich schließlich vollkommen aufzulösen; vielfach sieht man zunächst noch die übriggebliebenen Schatten der roten Blutkörperchen, die späterhin auch meist verschwinden. Wenn man nun Bauchhöhlenexsudat einer mehrfach mit Hammelblut vorbehandelten Maus in gleicher Weise auf Rinder- oder Meerschweinchen- oder Kaninchenblutkörperchen einwirken läßt, so ist von den eben geschilderten Erscheinungen der Agglutination und Hämolyse nichts zu bemerken: die roten und weißen Blutkörperchen sind gleichmäßig miteinander vermischt, und nur hin und wieder sieht man einmal, auch wieder nur einkernige weiße Blutkörperchen, zu $\frac{1}{3}$ bis zur Hälfte ihrer Körperoberfläche mit vereinzelt roten Blutkörperchen umkleidet; es ist gleichgültig, ob man das ganze noch gerinnbare Bauchhöhlenexsudat zur Vermischung mit den roten Blutkörperchen benutzt, oder ob man das Exsudat erst defibriniert und dann mit den betreffenden Erythrocyten vermischt. Im letzteren Falle ist natürlich die Zahl der Exsudatzellen eine wesentlich geringere, aber auch hier sieht man stets als Ausgangspunkt für das Zustandekommen der Agglutination und später der Hämolyse, als Mittelpunkt, um den sich die roten Blutkörperchen scharen und später verschmelzen, die einkernigen weißen Blutkörperchen, wie die nachträglich stets vorgenommenen Färbungen erwiesen.

Man stellt also objektiv nach Einspritzung fremdartiger roter Blutkörperchen in die Bauchhöhle von weißen Mäusen das Auftreten eines entzündlichen Exsudates fest, das außer den flüssigen Bestandteilen nur kurze Zeit wesentlich aus polymorphkernigen, späterhin aber zum größten Teile aus einkernigen weißen Blutkörperchen besteht, und das zuerst gleichmäßig mit den Erythrocyten vermischt ist; man sieht

dann, daß speziell die einkernigen ungranulierten weißen eine anziehende Einwirkung auf die Erythrocyten ausüben, daß die letzteren sich ihrem Zelleibe nähern, dem Zellkörper anlagern, ihn kranzförmig umgeben, in das Innere des Zelleibes eintreten, dort verdaut werden und daß die Erscheinungen in den nächsten Tagen deutlicher und ausgesprochener werden. Nach der zweiten Injektion der gleichen Blutkörperchenart tritt zuerst eine Art negativer Phase ein, in der keine Reaktion vorhanden ist, dann gewinnen nach kurzer polymorphkerniger Leukocytose schnell die einkernigen die Ueberzahl; prompter und stärker als das erste Mal umlagern die roten Blutkörperchen die weißen oft schon in mehrfachen Schichten und werden mächtig von ihrem Zelleib phagocytiert; die Erythrocyten bleiben schon bei flüchtiger Berührung an den einkernigen weißen kleben und können von ihnen nicht mehr losgerissen werden. In den nächsten Tagen kommt oft schon makroskopisch sichtbar eine deutliche Agglutination der zur Vorbehandlung benutzten Blutkörperchenart durch das Bauchhöhlenexsudat zustande. Nach der dritten Injektion folgt gleichfalls zuerst eine negative Phase, aber kürzer noch als die erste, dann tritt wieder nach einer schnell vorübergehenden polymorphkernigen eine fast ausschließlich aus einkernigen weißen Blutkörperchen bestehende Leukocytose auf; diese einkernigen weißen Blutkörperchen reißen stürmisch die roten an sich, umgeben sich mit mehrfachen Schichten von Erythrocyten, fast gleichzeitig erfolgt eine sehr starke Phagocytose durch die einkernigen, so daß ihre Zelleiber zum Bersten mit ihnen angefüllt sind; die Verdauung vollzieht sich im Innern der Zellen jetzt noch schneller als das zweite Mal. Den Uebergang von Hämagglutination zur Hämolyse zeigt die mikroskopische Beobachtung dergestalt, daß zuerst die roten Blutkörperchen, die die einkernigen weißen umlagern, und die zunächst noch ihre normale Gestalt besitzen, an den Berührungspunkten miteinander verkleben, daß dann in der Umgebung der einkernigen weißen die roten ihre Struktur vollkommen verlieren, miteinander verschmelzen, daß dieser Prozeß sich schnell nach der Peripherie hin weiter ausbreitet, so daß die ganze Masse der roten Blutkörperchen zu einem formlosen Klumpen sich umwandelt; diese formlose Masse zerschmilzt

schließlich, um zunächst noch Schatten der Erythrocyten zu hinterlassen, die späterhin auch häufig unsichtbar werden. In den nächsten Tagen tritt beim Vermischen eines solchen Bauchhöhlenexsudates mit den homologen Erythrocyten auf dem Objektträger schnell eine auch makroskopisch deutlich wahrnehmbare Agglutination ein, die nachher in eine Hämolyse übergeht. Es konnte stets beobachtet werden, daß dieser Uebergang von Agglutination zur Hämolyse wesentlich beschleunigt wird durch Erwärmung des Objektträgers auf etwa 37°, er vollzieht sich aber auch schon bei Zimmertemperatur, wenn auch weniger rasch und prompt. Einfügen möchte ich bei dieser Gelegenheit, daß bei mehrfach intraperitoneal vorbehandelten Kaltblütern, z. B. bei Fröschen, das Bauchhöhlenexsudat beim Vermischen mit den entsprechenden roten Blutkörperchen schon bei Zimmertemperatur meist so schnell in Hämolyse übergeht, daß man genau aufpassen muß, um das kurze Stadium der Agglutination überhaupt noch beobachten zu können. Wir wollen an dieser Stelle nicht untersuchen, ob die Agglutination ohne weiteres als eine Vorstufe und Vorbedingung der Hämolyse aufzufassen ist, so viel ist aber auch durch diese Befunde festgestellt, daß sehr nahe Beziehungen beider Phänomene zueinander bestehen, auf die wir unten noch kurz zurückkommen werden.

Vermischt man Bauchhöhlenexsudat von mehrfach mit Hammelblut vorbehandelten Mäusen mit andersartigen roten Blutkörperchen, so tritt weder Agglutination noch Hämolyse ein; das Exsudat ist mit den roten Blutkörperchen gleichmäßig vermischt, und nur mikroskopisch sieht man hin und wieder, besonders z. B. bei Gänseblutkörperchen, eine geringe Anlagerung bzw. Umlagerung um einzelne einkernige weiße; es kommt aber auch mikroskopisch weder Agglutination noch Hämolyse zustande. Behandelt man Mäuse intraperitoneal mehrfach mit anderen Substanzen, z. B. mit Aleuronat, Casein, Fibrin, Cerolin oder Olivenöl, und bringt dann Bauchhöhlenexsudat mit roten Blutkörperchen zusammen, so entsteht auch hier eine gleichmäßige Vermischung ohne Agglutination und Hämolyse; hier wird gewöhnlich auch die bei Vorbehandlung mit andersartigen Erythrocyten im mikroskopischen Bilde manchmal sichtbare Anlagerung an einkernige weiße Zellen vermißt.

Wenn man weiße Mäuse gleichzeitig oder hintereinander mit zwei verschiedenen Arten von roten Blutkörperchen, z. B. mit Hammel- und Gänseblut-, oder mit Hammel- und Rinderblutkörperchen vorbehandelt, so kann man speziell gegen diese beiden Erythrocytenarten gerichtete typische Agglutinine und Hämolysine erzeugen, die mit anderen roten Blutkörperchen nicht oder kaum in Reaktion treten. Die mikroskopischen Beobachtungen unterscheiden sich von den oben geschilderten in nichts. Interessant ist es jedoch, daß das Exsudat einer mit Hammel- und Gänseblutkörperchen mehrfach vorbehandelten weißen Maus mit diesen auf dem Objektträger eine mikro- und makroskopisch ausgesprochene Agglutination mit nachfolgender Hämolysie gibt, die beim Vermischen z. B. mit Rinderblut zwar völlig ausbleibt, wo man aber doch bei mikroskopischer Betrachtung hin und wieder eine geringe Umlagerung der einkernigen weißen mit vereinzelt oder auch mehreren Erythrocyten beobachtet. Vielleicht können derartige Befunde im kleinen eine Erklärung abgeben für die nicht absolut strenge Spezifität und für das Zustandekommen gewisser Gruppenreaktionen bei chemisch nahe verwandten Antigenen.

Um das Zustandekommen der Hämagglutination und Hämolysie genauer studieren, die eventuellen Beziehungen beider Vorgänge zueinander und den Mechanismus des komplexen Vorganges der Hämolysie feststellen zu können, wurden die Bestandteile des Bauchhöhlenexsudates in bezug auf ihr Verhalten den Erythrocyten gegenüber gesondert untersucht. Die in Kapillaren entnommenen Exsudate wurden zugeschmolzen, zentrifugiert und nun einesteils die gewaschenen Zellen, andererseits die seröse Flüssigkeit mit den homologen bzw. andersartigen Erythrocyten zusammengebracht. Hierbei ergab sich, daß die Flüssigkeit an sich zunächst weder Hämagglutination noch Hämolysie verursachte, während nach dem Vermischen der Exsudatzellen, die fast ausschließlich aus einkernigen weißen bestanden, mit den betreffenden roten Blutkörperchen eine typische Agglutination, wie oben geschildert, zustande kam. Eine Hämolysie durch alleinige Einwirkung der gewaschenen einkernigen weißen wurde auch nach mehrfacher Vorbehandlung nicht beobachtet, jedoch konnte eine solche erzeugt werden, wenn man den durch die lymphoiden

Zellen agglutinierten roten die seröse Bauchhöhlenflüssigkeit hinzufügte. Wurden die mit dem Exsudat beschickten zugeschmolzenen Kapillaren eine halbe Stunde auf 60° erwärmt, alsdann zentrifugiert und ihre Komponenten gesondert mit den betreffenden roten Blutkörperchen vermischt, so zeigte es sich, daß die einkernigen Exsudatzellen ihr Agglutinationsvermögen den homologen Erythrocyten gegenüber vollständig beibehalten hatten, daß die flüssigen Bestandteile allein keinerlei Einwirkung auf Agglutination bzw. Hämolysen hatten, daß aber jetzt auch nach Hinzufügen der serösen Flüssigkeit zu den agglutinierten roten eine Hämolysen nicht mehr eintrat. Mit andersartigen Erythrocyten wurde weder Agglutination noch Hämolysen erzielt. Späterhin gewinnt auch die Bauchhöhlenflüssigkeit selbst hämagglutinierende und hämolytische Eigenschaften.

Was lehren nun diese Befunde und wie sind sie zu deuten? Nachdem ich vor einer Reihe von Jahren in den Lymphocyten ein fettspaltendes Ferment gefunden hatte, da die Erythrocyten eine Lipoidhülle besitzen, und einerseits von Bang und Forssman usw. durch Injektion von Aetherextrakten roter Blutkörperchen Hämolysinbildung erzielt wurde, andererseits Neuberger mit seinen Mitarbeitern den Nachweis führen konnte, daß tierische, pflanzliche und bakterielle Agglutinine und Hämolysine gleichzeitig lipolytisch wirken, war es schon wahrscheinlich gemacht, daß die offenbar vermittelnde und ursächliche Wirkung der reaktiv auftretenden einkernigen weißen Blutkörperchen auf ihr Fettspaltungsvermögen bezogen werden konnte. Dafür sollten aber noch weitere Beweise erbracht werden.

Bezüglich der Beantwortung der Frage, welche Substanz bei der Hämagglutination und Hämolysen als Antigen wirkt, ist es zweckmäßig, von der morphologisch-chemischen Beschaffenheit der roten Blutkörperchen auszugehen, und da ergibt es sich, daß nach den bestbegründeten und auch allgemein geltenden Ansichten die Oberflächenschicht der roten Blutkörperchen eine Lipoidmembran darstellt. Da diese Begrenzungsfläche der Erythrocyten gewissermaßen den vorgeschobenen Posten bildet, an dem die Abwehrstoffe des Organismus zunächst angreifen müssen, so war von vornherein zu

vermuten, daß diese Lipoidstoffe als Antigene wirken, daß sie, um in Ehrlichschen Vorstellungen zu sprechen, die haptophore Gruppe enthalten, die sich mit einem passenden Rezeptor gewisser Körperzellen verankert. Diese biologische Wahrscheinlichkeit hatte sich durch die oben erwähnten Untersuchungen von Bang und Forssman noch gesteigert, und erhielt eine weitere indirekte Stütze durch die Befunde Neubergs und seiner Mitarbeiter, daß Agglutinine und Hämolsine Hand in Hand gehen mit einem gesteigerten lipolytischen Vermögen. Durch den Nachweis des fettspaltenden Fermentes in den einkernigen weißen Blutkörperchen und durch die Feststellung der gesetzmäßigen Rolle dieser Zellen beim Zustandekommen der Hämagglutination und Hämolyse ist der ursächliche Zusammenhang zwischen der Injektion der lipoidartigen roten Blutkörperchen und dem Auftreten der lipolytischen weißen Zellen biologisch verständlich geworden und eröffnet, wie wir weiterhin sehen werden, nicht bloß für viele Fragen der Hämagglutination und Hämolsinbildung, sondern der Immunitätsforschung überhaupt neue und aussichtsreiche Gesichtspunkte. Schon Metschnikoff war es bei seinen Studien aufgefallen, daß die roten Blutkörperchen nur von den einkernigen weißen aufgenommen werden, ohne aber die wirkliche Ursache hierfür und ihre biologische Bedeutung erkannt zu haben.

Wenn wir unsere oben geschilderten objektiven Befunde nach den Injektionen von roten Blutkörperchen in die Bauchhöhle von weißen Mäusen von diesem biologischen Gesichtspunkte aus betrachten, so erscheint tatsächlich der Vorgang der Agglutination und Hämolsinbildung in einem helleren Lichte. Wir haben gesehen, daß wir das Zustandekommen der Hämagglutination und Hämolyse von den ersten nur mikroskopisch sichtbaren Anfängen bis zu den ausgeprägtesten makroskopischen Erscheinungen systematisch verfolgen und sogar die einzelnen Phasen dieses Prozesses im mikroskopischen Bilde festhalten können. Wir können speziell die Rolle, die die einkernigen Zellen hierbei spielen, im Zusammenhang mit später noch zu betrachtenden weiteren Untersuchungsergebnissen genau beobachten und analytisch verfolgen. Wir sehen, wie kurz nach der Einspritzung zunächst die roten Blutkörperchen in der Exsudatflüssigkeit mit den Zellen gleich-

mäßig vermischt sind und selbst bei inniger Berührung unbeeinflusst nebeneinander liegen, wie sie sich später um die einkernigen weißen lagern, wie dann einzelne rote Blutkörperchen zunächst an der Oberfläche miteinander verkleben, wie vorbeiströmende andere an ihnen festhaften und selbst bei stärkerer Bewegung nicht mehr losgerissen werden können. Fernerhin backen ganze Gruppen von Erythrocyten zusammen und verklumpen zu einer formlosen Masse, ein Stadium, dem weiterhin ein vollkommenes Zerschmelzen, Auflösen, die Hämolyse folgt; manchmal sieht man dann noch deutlich die Schatten der roten Blutkörperchen. An gefärbten mikroskopischen Präparaten kann man sehr instruktiv die verschiedenen Stadien der Agglutination und Hämolyse von den ersten Anlagerungen der Erythrocyten um die einkernigen über das Verklumpen zu strukturlosen Massen und dem allmählichen Schmelzen bis zur schließlichen Auflösung der roten Blutkörperchen beobachten. Man sieht förmlich die lipolytische Wirkung. Ueber die Fähigkeit des Bauchhöhlenexsudates, des Serums und der lymphocytenbildenden Organe, sowohl mit roten Blutkörperchen als mit Erythrocytenlipoidextrakten intraperitoneal vorbehandelter Tiere, diesen Lipoidextrakten gegenüber eine erhöhte Fettspaltung zu gewinnen, soll späterhin besonders berichtet werden, da diese Untersuchungen noch nach manchen Richtungen hin ergänzt werden sollen.

Zunächst sollten die Fragen, ob tatsächlich das Lipoid der Erythrocyten als Antigen wirkt, und die Antikörperwirkung auf einer Lipasenbildung beruht, noch durch weitere Untersuchungen geklärt werden. Es wurden größere Mengen roter Blutkörperchen, insbesondere von Rindern und Pferden, durch mehrfaches Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung von allen Serumresten befreit, dann im Faust-Hein getrocknet und mit wasserfreiem Aether extrahiert. Mit derart gewonnenen Lipoidextrakten wurden nun weiße Mäuse, Meerschweinchen, Kaninchen mehrfach intraperitoneal vorbehandelt. Vorher wurde selbstverständlich das Serum dieser Tiere auf Agglutination bzw. Hämolyse gegenüber der betreffenden Blutkörperchenart geprüft. Bei weißen Mäusen wurde die interessante Beobachtung gemacht, daß in dem 3—4 Tage nach den

Injektionen entnommenen Bauchhöhlenexsudat viele kristallinische Gebilde, unter denen man das Cholestearin mikrochemisch nach der Salkowskischen Methode identifizieren konnte, oft von einkernigen weißen Blutkörperchen rings umgeben waren, daß die Tafeln wie angenagt und ausgehöhlt aussahen, daß die einkernigen in den dadurch entstandenen Buchten lagen und dann Tröpfchen in ihrem Körperinnern hatten, die späterhin verdaut wurden. Das für unsere Frage wichtigste Ergebnis aber war, daß das Bauchhöhlenexsudat und später das Serum von mit Rindererythrocytenlipoidextrakten mehrmals vorbehandelten Tieren bis zu starken Verdünnungen eine vollständige Hämolyse mit den homologen roten Blutkörperchen ergab. Wurde das Serum von Kaninchen, die mit roten Rinderblutkörperchenlipoidextrakten vorbehandelt waren, mit Rinderblutkörperchen zusammengebracht, so entstand eine ebenso komplette Hämolyse, wie mit dem Serum der Tiere, die zur Kontrolle mit roten Rinderblutkörperchen vorbehandelt waren. Wurde das Serum der mit solchen Lipoidextrakten vorbehandelten Tiere z. B. mit Hammelblut zusammengebracht, so kam auch eine geringe bis mäßige Hämolyse zustande, mit Pferdeblut war meist vollständige Hemmung, manchmal eine Spur einer Hämolysinbildung zu erkennen, Schweineblut wurde vollständig gehemmt. Die Spezifität ist also keine absolute, aber auch das Serum mit Erythrocyten vorbehandelter Tiere zeigte anderen Blutkörperchenarten gegenüber zum Teil ähnliche Wirkungen. Wurde nun das Serum eines mit Rinderblutkörperchenlipoidextrakt vorbehandelten Kaninchens, das mit Rindererythrocyten komplette Hämolyse gab, 2 Stunden lang mit dem betreffenden Lipoidextrakt im Brutofen bei 37° zusammengebracht, alsdann abzentrifugiert, und ließ man es nachher auf Rinderblutkörperchen einwirken, so kam eine totale Hemmung zustande, es trat das Phänomen der „elektiven Absorption“ ein. Wurde dagegen das Serum eines mit Rinderblutkörperchenlipoidextrakt vorbehandelten Kaninchens in analoger Weise mit Pferdeblutkörperchenextrakt im Brutofen bei 37° zusammengebracht, dann abzentrifugiert, und ließ man es nachher auf Rinderblutkörperchen einwirken, so trat eine vollständige Hämolyse ein. Wenn man die analogen Absorp-

tionsversuche nicht mit dem zur Vorbehandlung benutzten Blutkörperchenlipoidextrakt, sondern mit anderen Substanzen, z. B. Aleuronat, Casein, Cerolin, Butterfett, macht, so tritt dieses Phänomen nicht auf, sondern es kommt eine Hämolyse zustande.

Es ist ja bekannt, daß alle Substanzen, welche Fette lösen oder spalten, hämolytisch wirken.

In weiteren Untersuchungsreihen wurde der Extrakt frischer Pankreasdrüsen auf Hämolysinwirkung geprüft. Ließ man frisch gewonnenes Rinderpankreas, das möglichst von Bindegewebe und Fett befreit war, durch den Latapie gehen, verrieb dann mit geglühtem Seesand, fügte in bestimmtem Verhältnis physiologische Kochsalzlösung hinzu, ließ 2 Stunden schütteln, oder verdünnte man im Faust-Hein getrocknetes Pankreas 1:50, so ergab dieser Extrakt mit verschiedenen roten Blutkörperchenarten bis in große Verdünnungen hinein komplette Hämolyse. Wurde nun ein solcher Pankreasextrakt 1:50 mit dem Lipoidextrakt von roten Pferdeblutkörperchen vermischt, dann 1 Stunde geschüttelt, abzentrifugiert und mit Pferdeblut zusammengebracht, so entstand Hemmung, nur mit sehr hohen Dosen Pankreasextrakt kam zuweilen eine Spur Hämolyse zustande. Diese Hemmung war aber nicht absolut spezifisch lediglich gegenüber dem Pferdeblut, sondern in geringerem Grade auch gegenüber anderen Blutarten. Wurde aber das Pankreasextrakt zusammengebracht mit anderen Substanzen, z. B. mit Aleuronat, Casein, geschüttelt und dann abzentrifugiert, so trat komplette Hämolyse ein. Die Lipase ist also absorbiert worden. Das Schütteln des Pankreasextraktes allein beeinflusste dessen Wirksamkeit nicht. Das Pankreasextrakt, $\frac{1}{2}$ Stunde auf 60° erhitzt, gibt mit roten Blutkörperchen Hemmung. Erwähnung verdienen in diesem Zusammenhange gewisse Beobachtungen, die mit der Einwirkung der Thymusdrüse auf rote Blutkörperchen gemacht wurde. Unvorbehandelt, erwies sich diese in einer Mazeration von 1:5 bis 1:10 als nicht hämolytisch gegenüber den verschiedensten Erythrocytenarten. Behandelte man aber ganz junge Kaninchen mit Hammelblutkörperchen, so zeigte sich, daß nach 3—6 Tagen eine nach einiger Zeit wieder vorüber-

gehende Hämolysinwirkung der Thymusextrakte eintrat, während das Serum die Tiere noch nicht hämolysierte.

Die Vorstellung, der wir uns nunmehr auf Grund unserer Untersuchungen von dem Zustandekommen des hämolytischen Prozesses machen, ist die, daß das von den einkernigen weißen Zellen produzierte und sezernierte, infolge der Vorbehandlung reichlicher gebildete und spezifisch eingestellte lipolytische Ferment, wie bei allen fermentproduzierenden Zellen, in einer Vorstufe, als Zymogen, vorhanden ist und den sogenannten Zwischenkörper darstellt, und daß es durch eine normalerweise im Serum oder anderen Körperflüssigkeiten enthaltene thermolabile Substanz zu wirksamem Ferment aktiviert wird, eine Erscheinung, wie sie bei allen Fermentprozessen in analoger Weise beobachtet wird. Diese nunmehr spezifische aktive Lipase repräsentiert den Antikörper und greift an das Antigen, das Lipoid der Erythrocyten, höchstwahrscheinlich an das Lecithin an und spaltet es in eine Fettsäure und Glycerin. Es ist nun möglich, daß entweder diese Lipase an sich direkt die Hämolyse bewirkt, oder daß die frei gewordene Fettsäure die Hämolyse verursacht, oder daß diese sich mit dem Alkali bzw. Alkalieiweiß zu Seife verbindet, die ihrerseits die Hämolyse erzeugt. Eine Reihe von objektiven Befunden spricht sehr zugunsten der Auffassung der Abspaltung einer Fettsäure aus dem Lipoid der Erythrocyten durch eine Lipase, und zwar gerade für die Spaltung des Lecithins. Kobert fand, daß bei dem Uebergang des Oxyhämoglobins in den gelösten Zustand Glycerinphosphorsäure frei wird, und auch der Umstand, daß bei der Hämocytolyse als Folge derselben eine Herabsetzung der Alkaleszenz des Blutes sich ergibt, weist daraufhin, daß eine Säurebildung stattgefunden hat. Diese stärkere Säurebildung des hämolytischen Immunserums käme durch die Abspaltung der Fettsäure aus dem Lipoid der Erythrocyten zustande. Im übrigen ist durch mehrfache Untersuchungen festgestellt worden, daß Eiweißabbauprozesse bei der Hämolysinbildung keinerlei Rolle spielen.

Aus den Untersuchungen ergibt sich aber auch noch eine andere, wie mir scheint, sehr wichtige, weil allgemein gültige

Erkenntnis, nämlich die der Entstehung der spezifischen Einstellung der Lymphocytenlipase gegenüber dem jeweiligen Lipoid der roten Blutkörperchen. Wir sehen nämlich, daß von vornherein diese Einstellung der einkernigen weißen Blutkörperchen gegenüber den injizierten roten nicht besteht, daß erst allmählich diese spezifische Fähigkeit sich aus der allgemein lipolytischen entwickelt, und daß erst nach mehrfacher Vorbehandlung das Phänomen typisch und ausgebildet in die Erscheinung tritt; und zwar ist der Vorgang derart, daß die einkernige weiße Zelle die Erythrocyten infolge ihrer lipolytischen Fähigkeit an ihren Zellkörper chemotaktisch anlockt, in diesen aufnimmt und dort verdaut, d. h. eine gegen das Lipoid wirksame Lipase produziert, und daß erst infolge mehrfacher Vorbehandlung mit dem gleichen Blutkörperchenlipoid der Zellkörper gewissermaßen trainiert, darauf abgerichtet wird, gerade eine gegen diese bestimmte Lipoidsubstanz gerichtete spezifische Lipase zu liefern und diese nicht bloß in seinem Körperinnern zu behalten, sondern auch in die Umgebung abzusondern. Diese Beobachtungen dürften wohl imstande sein, die Entstehung der spezifischen Einstellung eines Zellfermentes gegen eine bestimmte Substanz unserem biologischen Verständnisse näher zu bringen, da sie nicht etwa bloß in den Beziehungen zwischen Lymphocyten und Agglutination und Hämolyse zum Ausdruck kommen, sondern auch zwischen diesen und z. B. den Fettsubstanzen der Tuberkelbacillen von mir experimentell nachgewiesen sind. Die Fähigkeit der Lymphocyten, sich spezifisch gegen ein bestimmtes Fett bzw. Lipoid einstellen zu können, haben wir bereits bei der Einwirkung der Lymphocyten auf den Tuberkelbacillus feststellen können. Dort wie hier kommt dieses Vermögen der spezifischen Einstellung dadurch zustande, daß zunächst durch das lipoiden Antigen die Lymphocyten chemotaktisch angelockt, daß die lipoidhaltigen Substanzen in den Zellleib aufgenommen werden, und daß in ihm die Fähigkeit, ein besonders gegen das betreffende Lipoid gerichtetes Ferment zu produzieren, sich allmählich herausbildet. Durch mehrfache Vorbehandlung mit dem gleichen Lipoid, dort mit Tuberkelbacillen, hier mit roten Blutkörperchen, steigert sich

diese Fähigkeit zu einer spezifischen Lipasenbildung, die nach Absonderung des Fermentes in die Umgebung auch außerhalb des Zellkörpers wirksam ist. Im übrigen sind derartige Vorgänge auch bei anderen fermenthaltigen Zellen mit Sicherheit festgestellt worden und können Analoga zu den obigen Befunden bei der Hämagglutination und Hämolyse bilden. So ist es bekannt, daß man Hefezellen durch Fütterung mit bestimmten Zuckerarten dazu zwingen kann, ein gerade gegen diese Kohlehydrate gerichtetes Ferment abzusondern, so ist es weiterhin bekannt, daß man durch einseitige Fütterung von Tieren mit bestimmten Nahrungsmitteln die Bauchspeicheldrüse zur Sekretion speziell gegen diese Substanzen gerichteter Fermente bringen kann. Die Entstehung der Spezifität ist auf diese Weise ihres rätselvollen Gewandes entkleidet und verspricht nicht nur für das Verständnis dieser Prozesse, sondern allgemein für alle entsprechenden Immunitätsvorgänge Bedeutung zu gewinnen. Infolge dieser Ergebnisse können wir auch die Erfahrungstatsache verstehen, daß die durch die reaktive Lymphocytose erzeugte Spezifität gegenüber den jeweiligen lipoidhaltigen Antigenen keine absolute ist, daß Antigene, die chemisch miteinander sehr nahe verwandt sind, naturgemäß die Veranlassung geben müssen zur Bildung von Antikörpern, die als Reaktionsprodukte einander ebenfalls sehr ähnlich sein müssen, und daß infolgedessen innerhalb einer sehr nahen Verwandtschaftsgruppe die ähnlichen Antikörper mit den ähnlichen Antigenen gewisse Gruppenreaktionen geben. So wird es uns z. B. begreiflich, warum die Lymphocyten des Liquor cerebrospinalis bei der progressiven Paralyse, in denen v. Wassermann und Lange die Quelle der Antistoffe erkannt haben, eine positive Wassermannsche Reaktion geben, der lymphocytenhaltige Liquor bei tuberkulöser Meningitis aber nicht, weil eben das Lymphocytenferment im ersteren Falle auf dasluetische, im letzteren auf das tuberkulöse Lipoid eingestellt ist. Auf der anderen Seite kann unbeschadet der Spezifität das Serum z. B. eines Leprakranken eine positive Wassermannreaktion haben, weil wahrscheinlich das lepröse undluetische Antigen eine chemische Aehnlichkeit besitzen, infolgedessen auch ähnliche Antikörper erzeugen.

Zusammenfassung.

Als Hauptresultate unserer Untersuchungen können wir die Erkenntnis betrachten, daß die immunisatorisch erzeugte Hämagglutination und Hämolysen einen chemischen Vorgang darstellt, der auf einer Verklebung, einem Verklumpen, bzw. einem Schmelzen, einer Lösung der Lipoidhülle der Erythrocyten beruht, daß hierbei das Lipoid der roten Blutkörperchen als Antigen wirkt, und daß der Zwischenkörper, der bei dem Immunisierungsprozeß neu entsteht, gebildet wird durch die Lipase der einkernigen weißen Blutkörperchen, die infolge mehrfacher Vorbehandlung mit der gleichen Blutkörperchenart ein sich spezifisch gegen das betreffende Lipoid einstellendes Zymogen produzieren, das dann in die Blutbahn übergeht und durch eine in den Körperflüssigkeiten vorhandene Substanz zu einem wirksamen Ferment aktiviert wird. Diese Lipase, bzw. die hämolysierende Substanz wird durch das entsprechende, als Antigen wirkende Erythrocytenlipoid völlig absorbiert, nicht aber durch andere Fett- oder Eiweißkörper.

Unsere Anschauungen vom Zustandekommen der Hämolysinbildung lassen sich mit den theoretisch als richtig erkannten Ehrlichschen Ideen sehr wohl in Einklang bringen; wir sind aber imstande, an Stelle der allgemeinen Vorstellungen bestimmte Tatsachen zu setzen. Wir können sagen, daß das Lipoid der roten Blutkörperchen die haptophore Gruppe des Antigens darstellt, die sich mit dem Rezeptor der als Antikörper wirkenden Lipase der einkernigen weißen Blutkörperchen verankert, daß von dieser zunächst unspezifisch wirkenden Lipase infolge mehrfacher Vorbehandlung ein gegen das betreffende Lipoid sich spezifisch oder nahezu spezifisch einstellender Immunkörper neu gebildet wird, der nicht nur im Zelleibe verbleibt, sondern nach außen in die Umgebung abgestoßen wird. Diese Substanz, dieser Immunkörper ist nun an sich noch nicht das voll wirksame hämolytische Ferment, sondern stellt nur eine Vorstufe, ein Zymogen dar, das thermostabil ist und erst durch eine andere Substanz, durch ein in den Körperflüssigkeiten präexistent vorhandenes „Komplement“, das schon durch Erwärmung auf 56° seine Wirkung verliert,

aktiviert wird. Das Zymogen kann insofern als „Ambozeptor“ aufgefaßt werden, als es befähigt ist, einerseits sich an das Antigen, das Lipoid der roten Blutkörperchen zu binden, andererseits zur hämolytischen Wirksamkeit des Hinzutritts des Aktivators, des „Komplements“ bedarf.

Erklärung der Tafel,

darstellend die einzelnen Phasen der Entstehung der Hämagglutination und Hämolyse nach mehrfacher Injektion von Hammelblutkörperchen in die Bauchhöhle von weißen Mäusen und Vermischung eines Tropfens Bauchhöhlenexsudats mit roten Hammelblutkörperchen auf dem Objektträger.

Fig. 1. Umlagerung der einkernigen weißen Zellen mit Erythrocyten.

Fig. 2. Zusammenballung der Erythrocyten um Einkernige zu schon makroskopisch sichtbaren Klümpchen.

Fig. 3. Zusammenbacken der in der nächsten Umgebung der einkernigen Weißen gelegenen Erythrocyten.

Fig. 4. Zusammenbacken des ganzen Klümpchens zu einer formlosen Masse; am Rande einzelne rote Blutkörperchen sichtbar.

Fig. 5. Erythrocyten, im Schmelzen begriffen.

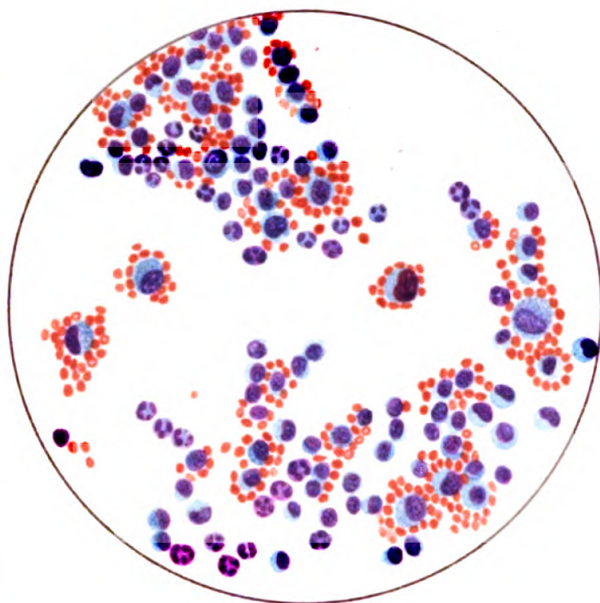
Fig. 6. Rote Blutkörperchen, gelöst. Man sieht überall, daß die polymorphkernigen Leukocyten die roten Blutkörperchen nicht beeinflussen.

Fig. 7. Erythrocyten, bis auf ganz geringe Reste verschwunden.

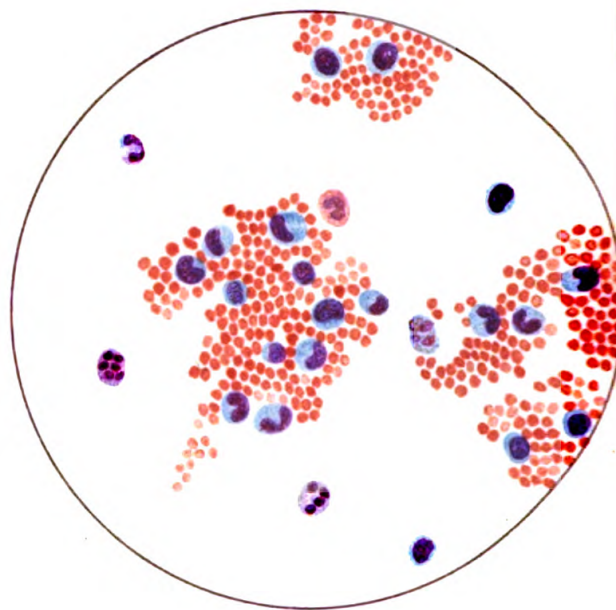
Fig. 8. Exsudat einer mit roten Hammelblutkörperchen mehrfach vorbehandelten Maus, zusammengebracht mit Rinderblutkörperchen.

Fig. 9. Exsudat einer mit einer Eiweißsubstanz mehrfach vorbehandelten weißen Maus, zusammengebracht mit roten Hammelblutkörperchen.

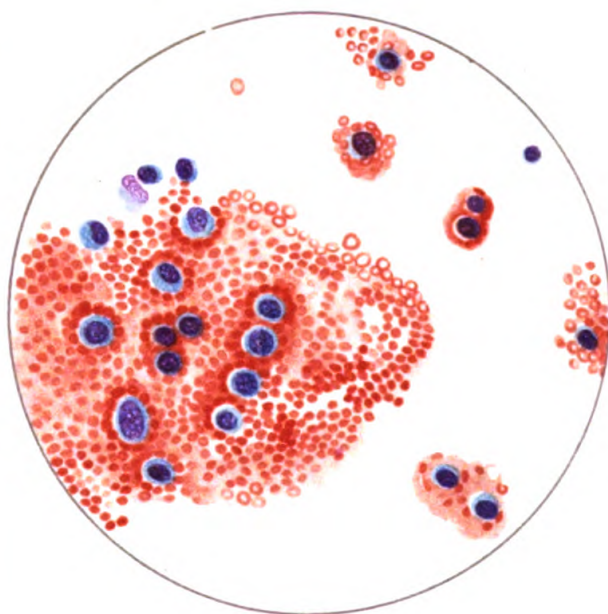
(G. C.)



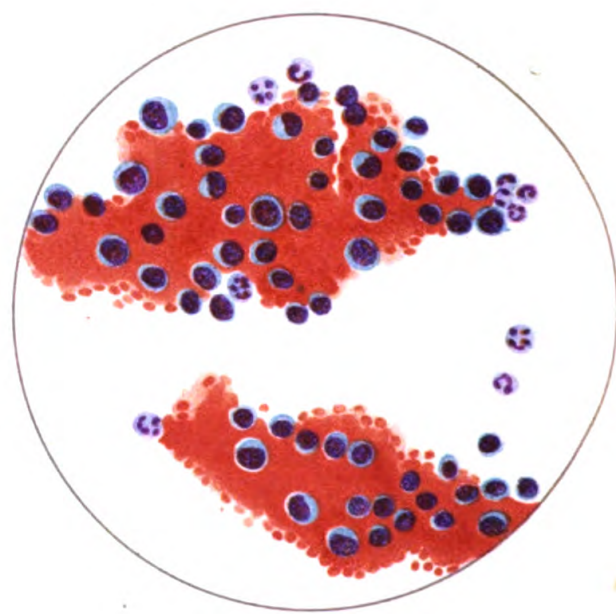
1.



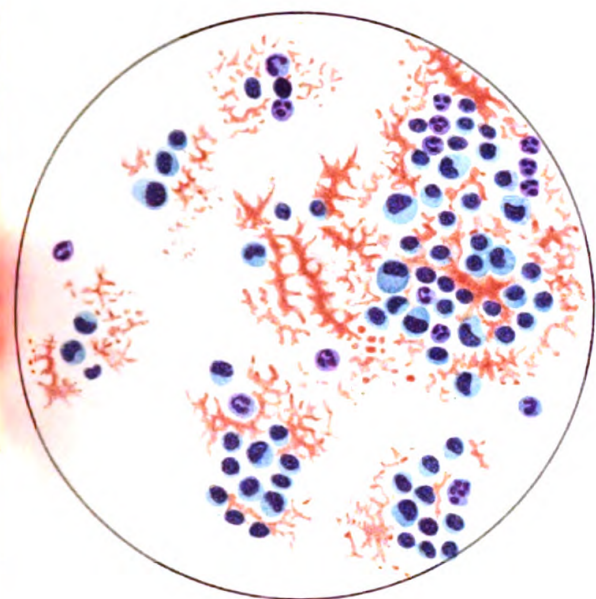
2.



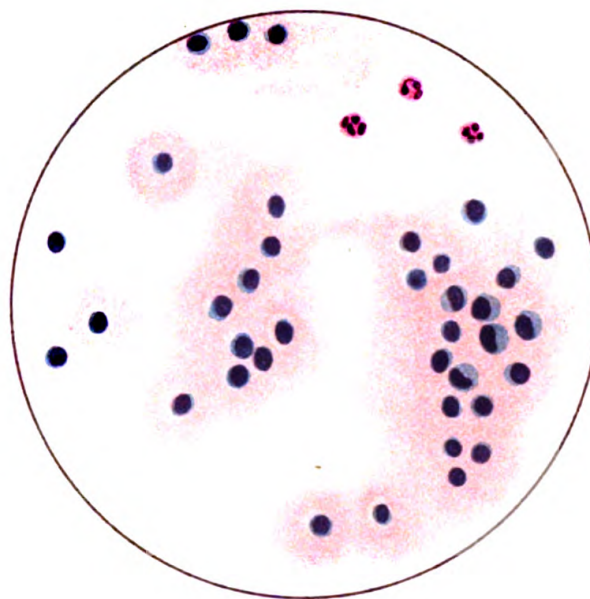
3.



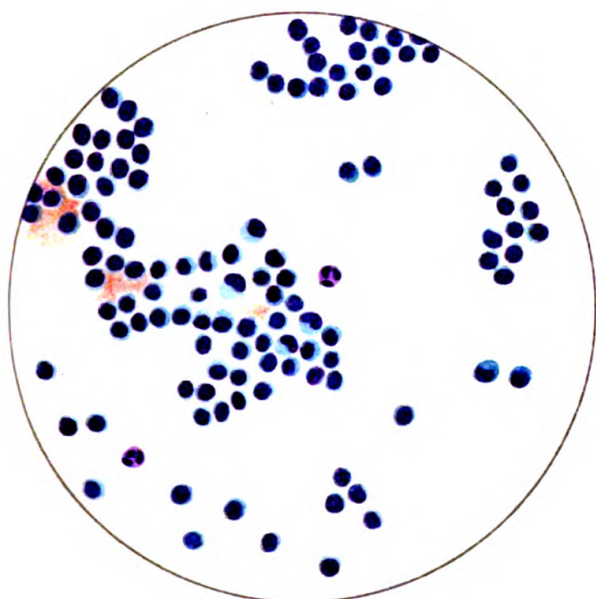
4.



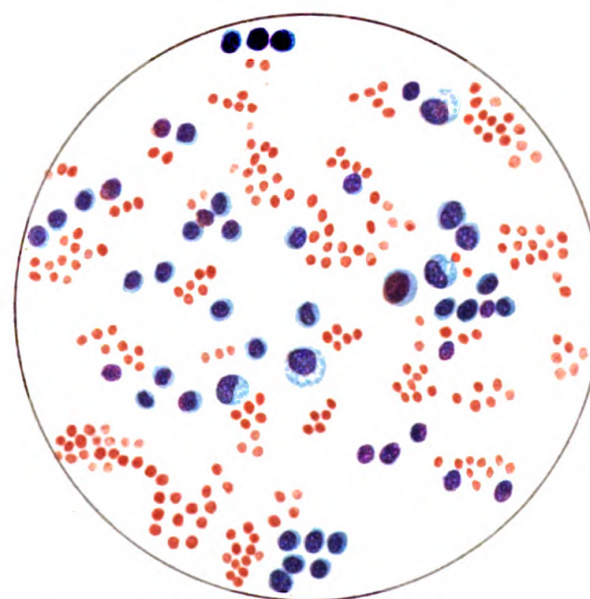
5.



6.



7.



8.

Nachdruck verboten.

[Aus der Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie des Pharmakologischen Instituts der Universität Berlin und aus dem Hygienischen Institut der Universität Greifswald.]

Ueber den Einfluß von Desinfektionsmitteln auf invisible Virusarten.

II. Das Verhalten des Virus der Vogelpocke (Epithelioma contagiosum) gegenüber verschiedenen Desinfektionsmitteln nebst Untersuchungen über des Wesen der Krankheit ¹⁾.

Von **E. Friedberger**

(nach gemeinschaftlichen Versuchen mit **E. Schioschi**).

(Eingegangen bei der Redaktion am 30. Mai 1918.)

Die Vogelpocken gehören mit den Menschenpocken, der Lyssa und einer Reihe anderer sicherer Infektionskrankheiten zu jenen, deren Erregernatur trotz charakteristischer und wohlstudierter Veränderungen, die die Infektion in gewissen Geweben bedingt, noch ganz in Schleier gehüllt ist.

Schon Virchow hat bei einer ähnlichen Erkrankung des Menschen, dem Molluscum contagiosum, in den für die Krankheit charakteristischen Epithelknoten eigentümlich rundliche oder ovale Körperchen entdeckt, die auch Bollinger als starke lichtbrechende Kugeln in den Epithelzellen eingeschlossen fand. Man hielt sie zunächst für Pflanzenparasiten (Rivolta und Delprato, Mingazzini, Sanfelice, Casagrandi, Benda).

Der wichtige Befund der Filtrierbarkeit des Virus der Vogelpocke durch Marx und Sticker ²⁾ im Jahre 1902 widerlegte die Ansicht von der primären parasitären Natur dieser Gebilde in den Epithelzellen der Taube. Der Nachweis der typischen Reaktion mit Scharlachrot und Osmiumsäure durch

1) Erste Mitteilung siehe Zeitschr. f. Hyg., Bd. 76, 1913.

2) Marx und Sticker, Untersuchungen über das Epithelioma contagiosum des Geflügels. Deutsche med. Wochenschr., 1902, p. 893.

L. Michaelis¹⁾ sprach für die Fettnatur der Einschlüsse. Der Autor hielt sie für eine Lipoid-Eiweißmischung. Apolant²⁾ trennte von den eigentlichen Pockenkörperchen kleinere Gebilde, wie sie zuerst von Benda beschrieben wurden (von ihm Bendasche Körperchen genannt). Er hielt sie für Kernentartungsprodukte, die ins Cytoplasma ausgestoßen sind. Schuberg und Schubotz³⁾ machten ähnliche Beobachtungen. Borrel⁴⁾ konnte 1904 unter Verwendung der Loefflerschen Geißelfärbungsmethode Gebilde nachweisen, die später durch Burnet⁵⁾, Lipschütz⁶⁾, v. Prowazek und de Beaurepaire⁷⁾ sowie Hartmann⁸⁾ gleichfalls dargestellt wurden. Es handelt sich um $\frac{1}{4} \mu$ große, rundliche Körperchen, die sich auch nach Giemsa, aber nicht nach Gram färben lassen. Sie sind bald einzeln, bald kettenweise, oft in kleinen Häufchen angeordnet und von einer schleimigen Hülle umgeben, die die Färbung schlechter annimmt. Ohne daß über die Natur dieser Gebilde bisher eine Einigkeit erzielt ist, steht ihre ätiologische Bedeutung jedenfalls mit den vorerwähnten Filtrationsversuchen nicht im Widerspruch. v. Prowazek konnte sie mit Hilfe der Ultrafiltration anreichern. Er nahm an, daß sie Epithelparasiten sind, die ihrerseits dort hüllenartige Reaktionsprodukte, die eigentlichen Pockenkörperchen bedingen; er bezeichnete sie deshalb in der Analogie mit den Vaccine- und Wutkörperchen als Chlamydozoen.

1) L. Michaelis, Mikroskopische Untersuchungen über die Taubepocke. Zeitschr. f. Krebsforsch., Bd. 1, p. 105.

2) Apolant, Beiträge zur Histologie der Geflügelpocke. Virch. Arch., Bd. 176, p. 86.

3) Schuberg und Schubotz, Zur Frage der Geflügelpocken. Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 47.

4) Borrel, Sur les inclusions de l'épithélioma contagieux des oiseaux. Compt. rend. de la Soc. de Biol., 1904.

5) Burnet, Contributions à l'étude de l'épithélioma contagieux des oiseaux. Ann. Inst. Pasteur, 1906.

6) Lipschütz, Untersuchungen über das Epithelioma contagiosum der Vögel. Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 46, p. 609.

7) v. Prowazek und de Beaurepaire, Weitere Untersuchungen über Chlamydozoen. Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 13.

8) Hartmann, Ueber Chlamydozoen. Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 47, 1910, Beiheft.

Da jedoch nach Lipschütz das Virus sich auch in den inneren Organen findet, ohne dort Veränderungen hervorzurufen, und nur für die Haut eine besondere starke Avidität mit anschließender Gewebsreaktion zeigt (Dermotropismus), so rechnet er diese „Erreger“ zu den „Strongyloplasmen“. Er bezeichnet diesen speziell als „Strongyloplasma avium“. Lipschütz folgert aus ihrem morphologischen sowie färberischen Verhalten sowie aus ihrem regelmäßigen und häufigen Vorkommen auf ihre parasitäre Natur, eine Anschauung, die übrigens auch schon Reischauer¹⁾ im Gegensatz zu Burnet (a. a. O.) geäußert hat, obwohl die Züchtung bisher nicht gelungen ist. Schuberg und Schubotz sind in dieser Beziehung skeptischer.

Die morphologischen Untersuchungen haben also die Aetiologie des Epithelioma contagiosum nicht endgültig festgestellt. Jedenfalls ist, solange die Züchtung aussteht, die Frage, ob die Körperchen Parasiten sind oder Zellen bzw. Kerndegenerationsprodukte, nicht zu entscheiden. Gleichwohl scheint kein Zweifel zu bestehen, daß es sich um eine echte Infektionskrankheit handelt; denn die Uebertragung gelingt von Taube zu Taube mit dem Hautmaterial bis zu 100 Proz. der Fälle²⁾, und zwar, wie Lipschütz gezeigt hat, noch bei 20 000-facher Verdünnung. Die Inkubation beträgt an den Augenlidern 5–6 Tage, bei Impfung auf die Brusthaut nur 2–4 Tage. Das Virus findet sich aber nicht nur in der Haut, wo allein die nachweisbaren pathologischen Veränderungen entstehen, sondern auch in den inneren Organen und im Blut [Löwenthal³⁾, Burnet, Lipschütz, Uhlenhuth⁴⁾ u. a.].

1) Reischauer, Ueber die Pocken der Vögel, ihre Beziehungen zu den echten Pocken und ihren Erregern. Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 40, 1906.

2) Das Virus läßt sich auch von Huhn zu Huhn, sowie von Taube zu Huhn überimpfen; dabei merkwürdigerweise nur sehr schwer von Huhn zu Taube. Bollinger, Virch. Arch., Bd. 58, 1873.

3) Löwenthal, Untersuchungen über die sogenannte Tauberpocke. Deutsche med. Wochenschr., 1906.

4) Uhlenhuth und Manteuffel, Neue Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Geflügeldiphtherie und Geflügelpocke. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, 1910.

Nach Burnet sind Blut und Organe 10 Tage nach der Hautverimpfung virulent und bleiben es noch bis zu 4 Wochen nach vollständiger Abheilung der Hauterscheinungen.

Sanfelice¹⁾ konnte das Virus schon 24 Stunden nach der Hautimpfung und bis zu 71 Tagen nach erfolgter Inokulation in die Haut noch in den inneren Organen finden. Eine beträchtliche Verbreitung erlangt das Virus dort etwa vom 7. bis 10. Tage an. Die Krankheit hinterläßt eine Immunität; das Blutserum enthält jedoch nach Burnet sowie Sanfelice keine viriziden Antikörper.

Die hohe Infektiosität des Pockenmaterials und die sich anschließende Immunität lassen es kaum zweifelhaft erscheinen, daß es sich hier um eine echte Infektionskrankheit handelt, wenn auch weder ein Erreger noch Antikörper seither nachgewiesen sind. Gleichwohl hat Sanfelice auf Grund einiger Versuche, auf die wir noch weiter unten ausführlich zu sprechen kommen, die Möglichkeit erörtert, „daß die veränderten Epithelzellen einen Bildungsherd für den Giftstoff, den „flüssigen Ansteckungsstoff“ bedeuten, der den pathologischen Vorgang auslöst; so brauchen wir damit noch nicht das Bestehen eines lebenden vermehrungsfähigen Keimes anzunehmen, sondern können uns ohne irgendwelche Schwierigkeit die Uebertragung der Krankheit von Tier auf Tier bis ins Unendliche erklären. Bei jedem Tier, auf das die Krankheit übertragen wird, findet eine neue Erzeugung des Virus von seiten der Zellen statt“ (a. a. O. p. 276). Er hat nämlich durch Behandlung von virushaltigem Hautmaterial mit 1-proz. Kalilauge bis zu 24 Stunden lang ein „Nukleoproteid“ extrahiert und damit positive Impferfolge erzielt. Es sind das aber Bedingungen, unter denen, wie er meint, ein lebender Erreger unbedingt vernichtet worden wäre, da selbst die Sporen des Milzbrandbacillus, die doch zu den physikalischen und chemischen Agentien gegenüber am meisten widerstandsfähigen Keimen gehören, der Einwirkung der 1-proz. Kaliumhydratlösung nicht so lange zu widerstehen vermögen, wie das Epithelioma contagiosum. Die Sporen des Milzbrandbacillus leisten

1) Sanfelice, Untersuchungen über das Epithelioma contagiosum der Tauben. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 76, 1913, p. 257.

nach Sanfelice der Einwirkung der 1-proz. Kaliumhydratlösung bei einer Temperatur von 15° C nur 9—10 Stunden Widerstand.

Wir kommen weiter unten auf diese Versuche von Sanfelice noch einmal ausführlich zurück. Sie boten uns den Anlaß, zunächst im Anschluß an entsprechende Versuche von Friedberger und Jamamoto¹⁾ mit dem Vaccinevirus, einmal systematisch den Einfluß verschiedener Desinfektionsmittel auf das Virus des Epithelioma contagiosum zu untersuchen. Denn natürlich vermögen auch Versuche über das Verhalten gewisser Virusarten gegenüber Desinfektionsmitteln im Vergleich zu anderen Mikroorganismenarten Aufschlüsse darüber zu geben, ob es sich hier überhaupt um einen lebenden Erreger handelt, und in diesem Fall auch bis zu einem gewissen Grade über die Natur des betreffenden Erregers.

Da in diesem Fall aber der Erreger keineswegs züchtbar ist, so haben wir für die Ermittlung der Keimvernichtung nicht etwa wie bei Bakterienversuchen sehr einfache Bedingungen im Reagenzglas, sondern wir bedürfen in jedem Fall zur Prüfung auf die Abtötung des Virus des Tierversuches. Das bedingt natürlich eine entsprechende Beschränkung in der Auswahl der Mittel und der Zahl der Versuche.

Daß wir dabei die Keime nicht in Reinkultur, sondern mehr oder weniger im Zustand ihres natürlichen Vorkommens zur Verfügung haben, erscheint nur als ein Vorteil. Wissen wir doch auch von den Desinfektionsversuchen mit Bakterien, welcher geringer Wert nur allzuhäufig den mit Reinkultur ermittelten Abtötungswerten für die Praxis zukommt, wo die Erreger unter ganz anderen chemischen und physikalischen Bedingungen mit den Desinfektionsmitteln zusammentreffen.

Versuche über den Einfluß chemischer und physikalischer Einwirkungen auf das Vogelpockenvirus liegen seither nur in beschränktem Maße vor. In Epithelmassen eingetrocknet, hält es sich 18 Monate lang (Lipschütz), bei minus 12° wird es in 5 Wochen abgetötet; bei 3-stündiger Erwärmung auf 60° und 1-stündiger Erwärmung auf 100° bleibt es, falls vorher

1) Friedberger und Jamamoto, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 76, 1913, p. 97.

eingetrocknet, am Leben (Marx und Sticker). Lebensdauer in Glyzerin mindestens 120 Tage (Burnet), 10-proz. Antiformin tötet nach Uhlenhuth in 24 Stunden noch nicht sicher. 10-proz. Atoxyl, 1-proz. Saponin, 10-proz. taurocholsaure Natriumlösungen töten nicht (Lipschütz, v. Pro-wazek und de Beaurepaire). 1-proz. Kalilauge, 1-proz. Essigsäure, $\frac{1}{2}$ —1-proz. Karbolwasser und 1-proz. Sublimatlösung töten nach 5 Minuten [Sanfelice¹⁾], nach anderen Angaben allerdings 1-proz. Karbollösung noch nicht in 1 Stunde²⁾.

Einfluß strahlender Energie: Radium tötet in $5\frac{1}{2}$ Stunden nicht ab (Löwenthal), Tageslicht unter Zusatz von 1-proz Erythrosin in 3 Tagen [Juliusberg³⁾].

Will man, wie wir es getan haben, den Einfluß einer Reihe von Desinfektionsmitteln wirklich brauchbar vergleichen, so ist es erforderlich, das Virus immer in möglichst gleicher Beschaffenheit dem betreffenden Agens auszusetzen, vor allen Dingen in möglichst gleicher feinsten Verteilung. Bei Bakterienversuchen ist diese ja ohne weiteres gegeben. Hier aber, wo das unbekannte invisible Virus lediglich im infizierten Gewebe sitzt, muß dessen Aufschwemmung für vergleichende Versuche so fein und gleichmäßig wie möglich gestaltet werden.

Zu dem Zweck haben wir jedesmal die Brusthaut einer, wie oben geschildert, geimpften, schwer an Taubenpocke erkrankten Taube (meist 8—10 Tage nach der Impfung) möglichst steril ausgeschnitten, 1 g Haut abgewogen und in einem Mörser zuerst mit steriler Schere in kleine Stücke geschnitten, mit sterilem Kieselsand unter allmählichem Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung (bis zu 20 ccm) fein verrieben und dann durch steriles Filtrierpapier filtriert, so daß sich ein gleichmäßiges, fein verteiltes Material ergab.

1) Sanfelice, Beiträge zur Aetiologie der sogenannten Pocken der Tauben. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 26, 1897.

2) Derartige Unterschiede sind wohl durch die verschiedene und in den einzelnen Versuchen ungleich physikalische Beschaffenheit des Ausgangsmaterials bedingt (siehe unten).

3) Juliusberg, Ueber das Epithelioma contagiosum von Taube und Huhn. Deutsche med. Wochenschr., 1904.

Von derartig hergestellten Filtraten wurden je 0,5 ccm mit der gleichen Menge der zu prüfenden Desinfektionsmittel versetzt. Als Kontrolle wurden 0,5 Filtrat jeweils mit 0,5 physiologischer Kochsalzlösung versetzt. Die Röhrchen kamen jedesmal in den Brutschrank. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde und nach 18 Stunden wurden gleiche Mengen der Flüssigkeitsgemische auf die Brusthaut gesunder, zuvor an der betreffenden Stelle entfiederter Tauben in möglichst gleichen Mengen mittels steriler Impffeder übertragen. Kontrolltauben erhielten das Virus mit physiologischer Kochsalzlösung an Stelle des Desinfektionsmittels. Ebenso wie bei unseren früheren Versuchen mit dem Vaccinevirus haben wir von einer Entfernung des Desinfektionsmittels durch Zusatz von Chemikalien vor der Verimpfung Abstand genommen, obwohl wir die Bedeutung dieses Verfahrens, dessen hohen Wert speziell für die Sublimatdesinfektion uns Geppert¹⁾ kennen gelehrt hat und besonders eingehend Ottolenghi²⁾ studiert hat, durchaus anerkennen. Aber mancherlei Bedenken und Schwierigkeiten der Ausführung schienen uns dagegen zu sprechen. Das Verfahren war von vornherein schon nur bei einem Teil der verwandten Mittel überhaupt anwendbar (und gerade hier zeigten sich zum Teil relativ geringe Desinfektionswerte), so daß die Vergleichsresultate dadurch keineswegs an Klarheit gewonnen hätten. Auch eine Entfernung des überschüssigen Desinfektionsmittels durch Abspülung verbot sich bei der Natur des Erregers und der Art seiner Prüfung, obwohl diese Methode nach den neueren Untersuchungen von Bechhold³⁾, sowie Laubenheimer⁴⁾ dem Entgiftungsverfahren vorzuziehen ist. Ebensowenig konnte man nach Schäffer durch ein schnelles Ausschleudern mit der Zentrifuge das Virus vom Desinficiens trennen.

1) Geppert, Berl. klin. Wochenschr., 1889, p. 789; ebenda, 1890, p. 246; Deutsche med. Wochenschr., 1891, p. 797; ebenda p. 1065.

2) Ottolenghi, Desinfektion, 1909, p. 104; ebenda, 1910. p. 73; 1911, p. 64.

3) Bechhold, Zeitschr. f. anorg. Chemie, 1909, p. 2033.

4) Laubenheimer, Phenol und seine Derivate. Habilitationsschrift Gießen, 1909.

Das alles fällt allerdings wenig ins Gewicht, wenn wir bedenken, daß die Mengen des Desinficiens, die mit dem Virus in die Haut hineingelangten, nur minimale gewesen sein konnten, daß sie zumeist von der Infektionsstelle aus leicht resorbiert wurden und außerdem eine wesentliche Verdünnung noch durch die Gewebsflüssigkeiten erfuhren. Dafür boten wir auch wiederum optimale Bedingungen für die Nachkultur, indem wir sie ja nur im hochempfindlichen tierischen Organismus (Taube) vornahmen, wo ja auch nach Gepperts Versuchen z. B. mangelhaft entgiftete, mit Sublimat behandelte Sporen besser auskeimen als in der künstlichen Kultur.

Wir konnten natürlich nicht, wie bei Desinfektionsversuchen mit Bakterien, die Abnahme der Keimzahl quantitativ verfolgen; ja, es war nicht einmal möglich, sicher zu entscheiden, ob das Aussaatmaterial in allen Versuchen gleich stark war, was gewiß nicht unwesentlich gewesen wäre, da wir auch wohl bei den Versuchen mit diesem Virus der ursprünglichen Aussaat eine hohe Bedeutung beimessen müssen. Doch glauben wir, Differenzen in dieser Richtung dadurch nach Möglichkeit umgangen zu haben, daß wir das Virus immer möglichst frisch und in relativ starken Konzentrationen in den einzelnen Versuchen zur Abtötung benutzten.

Jedesmal die minimale, noch gerade infizierende Dosis im Vorversuch zu bestimmen, um dadurch gewisse Anhaltspunkte für die Keimzahl zu erhalten, hätte, abgesehen von den enormen Tiermengen, auch schon wegen der vielleicht wechselnden Virulenz keine eindeutigen Resultate ergeben. Ebensowenig war es aus dem erwähnten Grunde angängig, die minimale Menge der Mischung zu bestimmen, die nach erfolgter Einwirkung des Desinficiens zur Erzeugung eines Impfeffektes noch erforderlich war.

Wir begnügten uns vielmehr damit, jeweils etwa gleiche Mengen auf einen immer gleichen und in den einzelnen Versuchen gleich großen Bezirk der entsprechenden Haut aufzuträufeln, wobei aus dem ausnahmslos positiven Erfolg der Kontrollen sich ergab, daß ausreichende Dosen des Virus in jedem Versuch für die Abtötung der Keime zur Verfügung standen.

Aus dem gleichmäßigen Verlauf der Infektion in den Kontrollversuchen dürfen wir schließen, daß in jedem Fall die Virusmengen bzw. die Virulenz annähernd gleich waren, während andererseits der verzögerte klinische Verlauf in den Versuchen mit Desinfizienten auch in den Fällen, in denen eine Abtötung nicht erfolgte, uns eine Keimverminderung oder Schädigung innerhalb gewisser Grenzen offenbarte.

Die Beobachtung des Infektionsprozesses geschah von Tag zu Tag.

In einem Vergleichsversuche wurden jedesmal je 0,5 der Verdünnung des Desinficiens mit 0,4 der gleichen Taubenspockenaufschwemmung und 0,1 einer Aufschwemmung von *Prodigosus bacillen*, gewonnen aus einer Oese zweitägiger, bei Zimmertemperatur gewachsener Agarkultur in 10 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung versetzt. Auch hier wurde im Kontrollversuch statt 0,5 ccm der Lösung des Desinfektionsmittels 0,5 ccm physiologische Kochsalzlösung benutzt. Die Röhrchen kamen gleichfalls in den Brutschrank. Auch hier wurde nach $\frac{1}{2}$ und 18 Stunden übergeimpft, und zwar auf Schrägagar. Die geimpften Röhrchen blieben 3 Tage bei Zimmertemperatur, dann wurde das Resultat notiert.

Bei der Auswahl der Desinfektionsmittel für die Versuche hielten wir uns im allgemeinen an die chemischen Stoffe und an die Verdünnungen, die auch Friedberger und Jamamoto bei ihren Versuchen mit dem Vaccinevirus benutzt hatten. Dazu veranlaßte uns vor allem die Absicht, die Versuche miteinander vergleichen zu können. Mancherlei deutet ja darauf hin, daß bei den Geflügelpocken und den Menschenpocken wohl Erreger aus derselben Gruppe von Mikroorganismen in Frage kommen. Dafür spricht der ausgesprochene Dermotropismus bei beiden Krankheiten und die Aehnlichkeit der Zelleneinschlüsse in den Epithelien bei Geflügelpocken mit den Guarnierischen Pockenkörperchen. Der Unterschied besteht nur darin, daß bei den Geflügelpocken wegen des länger dauernden Verlaufs die Knötchen- und Tumorbildung mehr hervortritt.

Uebersicht über die Desinfektionsversuche.**1. Sublimat.**

A. Je 0,5 ccm einer Sublimatlösung 1:10 000 und 1:100 000 in physiologischer Kochsalzlösung werden mit der gleichen Menge einer 1:20 verdünnten Taubenpockenaufschwemmung versetzt, so daß also im ganzen die doppelten Verdünnungen resultieren, die auch in den nachstehenden Versuchen in Rechnung gezogen werden. Ein Kontrollröhrchen mit Taubenpockenemulsion und entsprechender Menge Kochsalzlösung statt Sublimat.

B. Die gleichen Mengen der gleichen Verdünnungen und gleichen Volumina des Desinfektionsmittels werden mit 2 Tropfen der, wie oben geschildert, hergestellten Prodigiosusaufschwemmung versetzt. Alle Mischungen kommen in den Brutschrank. Nach $\frac{1}{2}$ bzw. 18 Stunden werden die Impfungen in die Brusthaut von Taube bzw. auf Agar vorgenommen.

Siehe Tabelle I auf p. 469.

Es ergibt sich aus der Tabelle I, daß Sublimat in der Verdünnung 1:20 000 bereits in 1 Stunde das Vogelpockenvirus abtötet. Nach 18 Stunden erscheint die Wirkung kaum stärker. Auf Prodigiosus wirkt Sublimat unter unseren Versuchsbedingungen etwa in den gleichen Verdünnungen abtötend. Das Vaccinevirus erwies sich in früheren Versuchen als widerstandsfähiger; Abtötung erfolgte in der Verdünnung 1:20 000 nicht mehr.

2. AgNO₃.

Bei den Versuchen mit AgNO₃ konnte natürlich die Verdünnung nicht in Kochsalzlösung vorgenommen werden. Um die Versuche mit den übrigen besser vergleichen zu können, benutzten wir statt der physiologischen Kochsalzlösung nicht destilliertes Wasser, sondern isotonische Rohrzuckerlösung. Im übrigen entsprach unsere Versuchsanordnung wieder der früheren.

Siehe Tabelle II auf p. 469.

Die Wirkung des Silbernitrats auf das Virus der Vogelpocke ist eine sehr intensive. 1:2000 tötet bereits in $\frac{1}{2}$ Stunde, in 18 Stunden sogar noch 1:20 000. Die Wirkung auf den Prodigiosusbacillus ist viel geringer (1:2000 in 18 Stunden). Vaccinevirus wurde bei der kurzdauernden Einwirkung über-

Tabelle I. Sublimat.

Nummer der Taube	Ver- dünnung des Sublimats	Tauben- pocken- ver- dünnung	A. Taubenpocke														B. Prodigiosus			
			Einwirkungsdauer des Desinficiens																	
			$\frac{1}{2}$ Std. bei 37°														18 Std. bei 37°			
			Beobachtung nach Tagen														$\frac{1}{2}$ Std. bei 37°	18 Std. bei 37°		
			3	4	5	6	7	8	9	10-14	3	4	5	6	7	8	9	10-14		
2	1:1000	1:20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	1:10 000	1:20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	1:100 000	1:20	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1	—	1:20	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle II. Silbernitrat.

Nummer der Taube	Ver- dünnung des Silber- nitrats	Tauben- pocken- ver- dünnung	A. Taubenpocke														B. Prodigiosus	
			Einwirkungs-dauer des Desinficiens															
			1/2 Std. bei 37°															
			18 Std. bei 37°															
			Beobachtung nach Tagen														1/2 Std. bei 37°	18 Std. bei 37°
3	4	5	6	7	8	9	10—14	3	4	5	6	7	8	9	10—14			
37	1:100	1:20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
34	1:1000	1:20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
38	1:10 000	1:20	—	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	+	+	
32	—	1:20	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

Tabelle III. Phenol.

Nummer der Taube	Ver- dünnung von Phenol- lösung	Tauben- pocken- ver- dünnung	A. Taubenpocke														B. Prodigiosus			
			Einwirkungsdauer des Desinficiens																	
			1/2 Std. bei 37°																	
			Beobachtung nach Tagen																	
			18 Std. bei 37°																	
			3	4	5	6	7	8	9	10-14	3	4	5	6	7	8	9	10-14	1/2 Std. bei 37°	18 Std. bei 37°
5	1:100	1:20	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	1:1000	1:20	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	1:10 000	1:20	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Kontrolle	—	1:20	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+

haupt nicht, bei der 18-stündigen Einwirkung nur bis 1:2000 abgetötet. Die bessere Wirkung des Silbernitrats im Vergleich zu dem anderen untersuchten Schwermetallsalz, dem Sublimat, dürfte darauf beruhen, daß die Wirkung dieses Salzes in der eiweißhaltigen Vaccineaufschwemmung eine bedeutend stärkere ist. Nach den Untersuchungen Behrings zeigt sich das Silbernitrat im Serum auch gegenüber Bakterien dem Sublimat bedeutend überlegen.

3. Phenol.

Siehe Tabelle III auf p. 469.

Das Phenol tötet 1:200 in $\frac{1}{2}$ Stunde das Virus der Vogelpocke nicht, wohl aber in 18 Stunden ab. In dieser Zeit macht sich auch noch eine gewisse Hemmung bei der Konzentration 1:2000 bemerkbar. Auf Prodigiosus ist die Verdünnung 1:200 schon bei $\frac{1}{2}$ -stündiger Einwirkung tödlich. Das Vaccinevirus wurde durch 1:200 überhaupt nicht nachweisbar beeinflusst.

4. Chloroform.

Als Stammlösung wurde ein gesättigtes Chloroformwasser benutzt, das, wie folgt, hergestellt war.

0,7 Chloroform werden in 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung 2 Stunden lang geschüttelt. Die Mischung bleibt dann noch 24 Stunden gut verkorkt stehen und wird vor der Benutzung nochmals kräftig geschüttelt. Die einzelnen Röhrchen, in denen Verdünnungen des Chloroformwassers auf die Vaccine einwirken, werden sorgfältig verkorkt, um ein Verdunsten des Chloroforms zu verhüten. Die in der Tabelle IV angegebenen Verdünnungen beziehen sich auf das „gesättigte“ Chloroformwasser.

Siehe Tabelle IV auf p. 471.

In der Verdünnung 1:20 macht sich bei $\frac{1}{2}$ -stündiger Einwirkung eine Entwicklungshemmung bei Prodigiosus und Taubenpockenvirus bemerkbar. Bei 18-stündiger Einwirkung tötet die Verdünnung 1:20 beide Erreger. Gegenüber dem Vaccinevirus machte sich durch die Verdünnung 1:20 keine deutliche Wirkung geltend, vielleicht nur eine minimale Entwicklungshemmung.

Tabelle IV. Chloroform.

Nummer der Taube	Ver- dünnung von Chloro- form	Tauben- pocken- ver- dünnung	A. Taubenpocke														B. Prodigiosus		
			Einwirkungsdauer des Desinficiens														1 1/2 Std. bei 37°	18 Std. bei 37°	
			Beobachtung nach Tagen																
			3	4	5	6	7	8	9	10	14	3	4	5	6	7			8
19	1:10	—	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—
20	1:100	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
21	1:1000	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kontrolle	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle V. Formalin.

Nummer der Taube	Ver- dünnung des For- malins	Tauben- pocken- ver- dünnung	A. Taubenpocke														B. Prodigiosus			
			Einwirkungsdauer des Desinficiens														$\frac{1}{2}$ Std. bei 37°	18 Std. bei 37°		
			Beobachtung nach Tagen																	
			3	4	5	6	7	8	9	10	14	3	4	5	6	7			8	9
18	1:100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
3	1:1000	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
16	1:10000	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Kontrolle	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

Tabelle VI. Antiformin.

Nummer der Taube	Ver- dünnung des Anti- formins	A. Taubenpocke														B. Prodigiosus					
		Tauben- pocken- ver- dünnung	Einwirkungsdauer des Desinficiens														1/2 Std. bei 37°	18 Std. bei 37°			
			Beobachtung nach Tagen																		
			3	4	5	6	7	8	9	10	14	3	4	5	6	7			8	9	10
33	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30	1:100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
35	1:1000	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kontrolle	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

5. Formalin.

Es wurden von der Originalformalinlösung (40-proz.) Schering die aus der Tabelle V ersichtlichen Verdünnungen benutzt; die Versuchsröhrchen wurden sorgfältig verkorkt.

Siehe Tabelle V auf p. 471.

Einwirkung auf Taubenpocken und Prodigiosus gleich stark, nach $\frac{1}{2}$ Stunde bis 1:200, nach 18 Stunden 1:10 000. Die Wirkung auf den Vaccineerreger war hier die gleiche.

6. Antiformin.

Es wurde Antiformin, bezogen von S. Kühne, Berlin, benutzt. Versuchsanordnung wie vorher.

Siehe Tabelle VI auf p. 471.

Resultat: Einwirkung auf Taubenpockenvirus und Prodigiosus gleich stark. Bei $\frac{1}{2}$ -stündiger Einwirkung 1:200, bei 18-stündiger Einwirkung nicht stärker. Auf Vaccinevirus wirkt dagegen Antiformin noch bei 1:2000 abtötend.

7. Wasserstoffsperoxyd.

Es wurde eine Lösung von Kahlbaum, Berlin, mit 30 Gewichtsprozent benutzt. Die Verdünnungen beziehen sich auf diese Originallösung. Die Mischung von Desinficiens mit der Virusaufschwemmung wurde in wohlverkorkten Röhrchen gehalten. Versuchsanordnung im übrigen wie oben. Das Resultat des Abtötungsversuches zeigt die Tabelle VII.

Siehe Tabelle VII auf p. 473.

Bei $\frac{1}{2}$ -stündiger Einwirkung auf Prodigiosusbacillen und Taubenpocke bei Verdünnung 1:20 geringe Entwicklungshemmung, nach 18 Stunden Abtötung. Vaccinevirus wurde noch bei 1:200 abgetötet.

8. Chininum hydrochloricum.

Siehe Tabelle VIII auf p. 473.

Nach $\frac{1}{2}$ Stunde bei 1:200 geringe Entwicklungshemmung der Vogelpocke, fast völlige Abtötung des Prodigiosus, nach 18 Stunden keine völlige Abtötung der Vogelpocke, wohl aber des Prodigiosus bei dieser Verdünnung. Bei Vaccine machte sich überhaupt keine Einwirkung bei der Konzentration 1:200 geltend, während eine gewisse Hemmung auch noch die Taubenpocke gegenüber der Konzentration 1:2000 in 18 Stunden zeigt.

Tabelle VII. Wasserstoffsuperoxyd.

Nummer der Taube	Ver- dünnung des Wasser- stoff- super- oxyds	Tauben- pocken- ver- dünnung	A. Taubenpocke														B. Prodigiosus			
			Einwirkungsdauer des Desinficiens																	
			1/2 Std. bei 37°														18 Std. bei 37°		1/2 Std. bei 37°	18 Std. bei 37°
			Beobachtung nach Tagen																	
			3	4	5	6	7	8	9	10—14	3	4	5	6	7	8	9	10—14		
17	1:10	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	—		
10	1:100	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
25	1:1000	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Kontrolle	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		

Tabelle VIII. Chininum hydrochloricum.

Nummer der Taube	Ver- dünnung des Chininum hydro- chloricum	Tauben- pocken- ver- dünnung	A. Taubenpocke														B. Prodigiosus	
			Einwirkungsdauer des Desinficiens															
			$\frac{1}{2}$ Std. bei 37°														18 Std. bei 37°	
			Beobachtung nach Tagen															
			3	4	5	6	7	8	9	10-14	3	4	5	6	7	8	9	10-14
64	1:100	1:20	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
65	1:1000	1:20	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
66	1:10 000	1:20	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kontrolle	—	1:20	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle IX. Salizylsäure.

33 Nummer der Taube	Ver- dünnung der Salizyl- säure	Tauben- pocken- ver- dünnung	A. Taubenpocke														B. Prodigiosus	
			Einwirkungs-dauer des Desinficiens															
			1/2 Std. bei 37°														18 Std. bei 37°	
			Beobachtung nach Tagen															
			3	4	5	6	7	8	9	10-14	3	4	5	6	7	8	9	10-14
88	1:1000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
55	1:10 000	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
85	1:100 000	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kontrolle	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

9. Salizylsäure.

Siehe Tabelle IX auf p. 473.

Abtötung der Vogelpocke und des Prodigiosus 1:2000 in $\frac{1}{2}$ Stunde, 1:20 000 in 18 Stunden. Auf das Vaccinevirus kein Einfluß, selbst bei der Verdünnung 1:2000.

10. As_2O_3 .

Es wurde als Stammlösung $\frac{1}{10}$ As_2O_3 -Lösung (1 ccm dieser Lösung enthält 4,948 mg As_2O_3) benutzt.

Die Verdünnungen beziehen sich auf diese Stammlösung.

Siehe Tabelle X auf p. 475.

Die Wirkung ist nach $\frac{1}{2}$ Stunde und nach 18 Stunden stärker auf Prodigiosus als auf das Vogelpockenvirus. Bei der Verdünnung 1:20 ist Prodigiosus in $\frac{1}{2}$ Stunde abgetötet, die Vogelpocke nur bei der Verdünnung 1:2. Nach 18 Stunden abtötende Konzentration für Vogelpocke 1:20, für Prodigiosus mindestens 1:200.

11. Natriumarseniat.

Natriumarseniat ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) enthält 24,19 Proz. As. Daher ergeben 20,399 Natriumarseniat, in 500 ccm Wasser gelöst, 1 Proz. Arsen. Diese Stammlösung wird in der Tabelle als 1:100 bezeichnet, 10-fach verdünnt, als 1:1000, 100-fach verdünnt, als 1:10 000.

Siehe Tabelle XI auf p. 475.

Keine Wirkung auf Prodigiosus, leichte Hemmung gegenüber der Taubenpocke schon in $\frac{1}{2}$ Stunde bis 1:2000; Abtötung nach 18 Stunden bei 1:200. Wir haben hier zum ersten Male ein Mittel, das die Vogelpocke leichter abtötet als den Prodigiosus.

12. Natriumarsenit.

Natriumarsenit (NaAsO_2) enthält 54,8 Proz. As. Daher ergeben 9,122 g Natriumarsenit, in 500 ccm Wasser gelöst, 1 Proz. As. Diese Stammlösung wird in der Tabelle als 1:100 bezeichnet, 10-fach verdünnt, als 1:1000, 100-fach verdünnt, als 1:10 000.

Siehe Tabelle XII auf p. 475.

Tabelle X. As_2O_3 .

Nummer der Taube	Verdünnung von As_2O_3	A. Taubenpocke														B. Prodigiosus	
		Einwirkung des Desinficiens															
		1/2 Std. bei 37°														1/2 Std. bei 37°	
		Beobachtung nach Tagen														18 Std. bei 37°	
		3	4	5	6	7	8	9	10-14	3	4	5	6	7	8	9	10-14
86	1:1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
60	1:10	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
89	1:100	—	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+	+	+	—
Kontrolle	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle XI. Natriumarseniat.

Nummer der Taube	Verdünnung von Natriumarseniat	A. Taubenpocke														B. Prodigiosus	
		Einwirkung des Desinficiens															
		1/2 Std. bei 37°														1/2 Std. bei 37°	
		Beobachtung nach Tagen														18 Std. bei 37°	
		3	4	5	6	7	8	9	10-14	3	4	5	6	7	8	9	10-14
106	1:100	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
107	1:1000	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
108	1:10000	—	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
Kontrolle	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle XII. Natriumarsenit.

Nummer der Taube	Verdünnung des Natriumarsenit	A. Taubenpocke														B. Prodigiosus	
		Einwirkung des Desinficiens															
		1/2 Std. bei 37°														1/2 Std. bei 37°	
		Beobachtung nach Tagen														18 Std. bei 37°	
		3	4	5	6	7	8	9	10-14	3	4	5	6	7	8	9	10-14
110	1:100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
111	1:1000	—	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
112	1:10000	—	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
Kontrolle	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+

33*

Einwirkung wie beim Natriumarseniat bedeutend stärker auf Vogelpocke als auf Prodigiosus. Hier Abtötung bei 1:2000 schon in $\frac{1}{2}$ Stunde, dort wiederum überhaupt keine Wirkung selbst nach 18 Stunden.

13. Brechweinstein.

Siehe Tabelle XIII auf p. 477.

Auf Vogelpocke keine Wirkung in 18 Stunden. Auf Prodigiosus geringe Entwicklungshemmung bei 18 Stunden in der Verdünnung 1:200. Gegenüber dem Vaccinevirus zeigte sich lediglich eine Entwicklungshemmung bis 1:2000, aber auch hier keine Abtötung durch die stärkere Konzentration.

Gegenüber dem Arsen ist also die Vogelpocke weniger resistent als der Prodigiosusbacillus, dagegen gegenüber dem Brechweinstein vielleicht etwas resistenter.

14. Saponin.

Kein Einfluß auf Prodigiosus und Vogelpocke in der Verdünnung 1:200. Das Vaccinevirus wurde dagegen bei 1:2000 in 18 Stunden abgetötet.

Siehe Tabelle XIV auf p. 477.

15. Seife.

Die Versuche wurden mit Natrium oleinicum angestellt.

Siehe Tabelle XV auf p. 477.

Nach $\frac{1}{2}$ Stunde Entwicklungshemmung bei Taubenpocke und Prodigiosus gegenüber der Verdünnung 1:200. Nach 18 Stunden Abtötung bei Prodigiosus 1:200. Vaccinevirus verhielt sich hier wie die Vogelpocke.

16. Galle.

Siehe Tabelle XVI auf p. 478.

Bei der Taubenpocke starke Entwicklungshemmung bei der Verdünnung 1:20 schon nach $\frac{1}{2}$ Stunde; gegenüber Prodigiosus keine Einwirkung; auch das Vaccinevirus wurde bei Verdünnung 1:10, in geringem Grad noch bei 1:200 gehemmt.

17. Gallenbestandteile.

Zur Entscheidung der Frage, welchen Gallenbestandteilen die abtötende Wirkung zukommt, haben wir aus Galle folgende Komponenten isoliert:

Tabelle XIII. Brechweinstein.

Nummer der Taube	Verdünnung des Brechweinsteins	A. Taubenpocke														B. Prodigiosus			
		Einwirkung des Desinficiens																	
		1/2 Std. bei 37°																18 Std. bei 37°	1 1/2 Std. bei 37°
		Beobachtung nach Tagen																	
		3	4	5	6	7	8	9	10—14	3	4	5	6	7	8	9	10—14		
57	1:100	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
61	1:1000	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
58	1:10000	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kontrolle	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle XIV. Saponin.

Nummer der Taube	Ver- dünnung des Saponins	Tauben- pocken- ver- dünnung	A. Taubenpocke														B. Prodigiosus	
			Einwirkung des Desinficiens														$\frac{1}{2}$ Std. bei 37°	18 Std. bei 37°
			Beobachtung nach Tagen															
			$\frac{1}{2}$ Std. bei 37°	18 Std. bei 37°														
			3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	10-14			
67	1:100	1:20	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
68	1:1000	1:20	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
69	1:10 000	1:20	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kontrolle	—	1:20	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle XV. Natrium oleinicum.

Nummer der Taube	Verdünnung des Natrium oleinicum	A. Taubenpocke														B. Prodigiosus			
		Einwirkung des Desinficiens																	
		$\frac{1}{2}$ Std. bei 37°														18 Std. bei 37°			
		Beobachtung nach Tagen																	
		3	4	5	6	7	8	9	10—14	3	4	5	6	7	8	9	10—14	$\frac{1}{2}$ Std. bei 37°	18 Std. bei 37°
77	1:100	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
78	1:1000	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
79	1:10 000	—	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kontrolle	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle XVI. Galle.

Nummer der Taube	Ver- dünnung der Galle	Tauben- pocken- ver- dünnung	A. Taubenpocke														B. Prodigiosus				
			Einwirkungsdauer des Desinficiens																		
			$\frac{1}{2}$ Std. bei 37°														18 Std. bei 37°				
			Beobachtung nach Tagen																		
			3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	$\frac{1}{2}$ Std. 18 Std. bei 37° bei 37°						
101	1:1	1:20	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
102	1:10	1:20	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
103	1:100	1:20	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kontrolle	—	1:20

Tabelle XVII. Gallenbestandteile.

Nummer der Taube	Gallen- bestand- teile	Taubenpocken- verdünnung	A. Taubenpocke														B. Prodigiosus						
			Einwirkungsdauer des Desinficiens																				
			$\frac{1}{2}$ Std. bei 37°														18 Std. bei 37°						
			Beobachtung nach Tagen														$\frac{1}{2}$ Std. 18 Std. bei 37° bei 37°						
			3	4	5	6	7	8	9	10	11	12—14	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12—14	
a	Mucin	1:20	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
b	Aether (lösl.)	1:20	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
c	Gallens, Salze	1:20	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—	+	+	+	+	+	+
d	—	1:20	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

- 1) das Mucin nach Salkowski,
- 2) die ätherlöslichen Bestandteile und
- 3) die Gallensäuren nach Salkowski und Hoppe-Seyler.

Die einzelnen Fraktionen wurden mit Kochsalzlösung auf das ursprüngliche Gallenvolum (200 ccm) aufgefüllt und auf ihre Einwirkung gegenüber Taubenpocke in der gewöhnlichen Versuchsanordnung untersucht.

Siehe Tabelle XVII auf p. 478.

Resultat: Entwicklungshemmung durch die ätherlöslichen Bestandteile, noch mehr durch die gallensauren Salze. Auf Prodigiosus keine Wirkung. Die Wirkung auf die Vaccine war gleichsinnig wie bei der Vogelpocke, es erfolgt sogar nach 18 Stunden eine völlige Abtötung.

Tabelle XVIII.

Uebersichtstabelle. Abtötende Konzentration in $\frac{1}{2}$ Stunde und 18 Stunden.

Desinfektionsmittel	Vaccine		Taubenpocke		Prodigiosus		Differenzen in der Resistenz der 3 Gruppen		
	$\frac{1}{2}$ Std.	18 Std.	$\frac{1}{2}$ Std.	18 Std.	$\frac{1}{2}$ Std.	18 Std.	Vaccine	Taubenpocke	Prodigiosus
1. Sublimat	$\frac{1}{2000}$	$\frac{1}{2000}$	$\frac{1}{20000}$	$\frac{1}{20000}$	$\frac{1}{20000}$	$\frac{1}{20000}$	\wedge	\wedge	\wedge
2. Silbernitrat	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{2000}$	$\frac{1}{2000}$	$\frac{1}{20000}$	$\frac{1}{20000}$	$\frac{1}{20000}$	\wedge	\wedge	\wedge
3. Phenol	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	—	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	\wedge	\wedge	\wedge
4. ges. Chloroformwasser	—	—	—	$\frac{1}{20}$	—	$\frac{1}{20}$	\wedge	\wedge	\wedge
5. Formalin 40 Proz.	$\frac{1}{2000}$	$\frac{1}{20000}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{20000}$	$\frac{1}{2000}$	$\frac{1}{20000}$	\wedge	\wedge	\wedge
6. Antiformin	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{2000}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	\wedge	\wedge	\wedge
7. Wasserstoffsuperoxyd 30 Proz.	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	—	$\frac{1}{20}$	—	$\frac{1}{20}$	\wedge	\wedge	\wedge
8. Chinin. hydrochloric.	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	—	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	\wedge	\wedge	\wedge
9. Salizylsäure	$\frac{1}{2000}$	—	$\frac{1}{2000}$	$\frac{1}{20000}$	$\frac{1}{20000}$	$\frac{1}{20000}$	\wedge	\wedge	\wedge
10. As_2O_3	—	—	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	\wedge	\wedge	\wedge
11. Natriumarseniat	—	—	—	$\frac{1}{200}$	—	$\frac{1}{200}$	\wedge	\wedge	\wedge
12. Natriumarsenit	—	—	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	—	$\frac{1}{200}$	\wedge	\wedge	\wedge
13. Brechweinstein	—	$\frac{1}{200}$	—	$\frac{1}{200}$	—	$\frac{1}{200}$	\wedge	\wedge	\wedge
14. Saponin	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{2000}$	—	$\frac{1}{200}$	—	$\frac{1}{200}$	\wedge	\wedge	\wedge
15. Natrium oleinicum	—	$\frac{1}{200}$	—	$\frac{1}{200}$	—	$\frac{1}{200}$	\wedge	\wedge	\wedge
16. Galle	—	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	—	$\frac{1}{1}$	\wedge	\wedge	\wedge
17. Gallensaure Salze	—	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	—	$\frac{1}{1}$	\wedge	\wedge	\wedge
18. Aether, löslich	—	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	—	$\frac{1}{1}$	\wedge	\wedge	\wedge
19. Mucin	—	$\frac{1}{1}$	—	$\frac{1}{1}$	—	$\frac{1}{1}$	\wedge	\wedge	\wedge

1) Verdünnungen beziehen sich auf Stammlösung, s. Text.

Die vorstehende Tabelle zeigt eine Uebersicht über die Desinfektionsversuche mit Vaccine, Taubenpocke und Prodigiosus. Die Versuche sind nur in einem begrenzten Umfang vergleichbar und nur mit gewissen Einschränkungen; am ehesten noch die Versuche mit Taubenpocke und Prodigiosus, denn diese wurden gleichzeitig mit derselben Lösung der Desinfizientien angestellt, und außerdem war durch Aufschwemmung von Prodigiosus in Taubenpockenmaterial die Umsetzung zwischen den Desinfektionsmitteln und dem Gewebe annähernd die gleiche. Aber auch hier darf man nicht vergessen, daß, so homogen auch die Aufschwemmungen des Taubenpockenmaterials hergestellt wurden, sie doch nicht immer absolut gleich sein konnten. Sodann sind natürlich die künstlich zugesetzten Prodigiosusbacillen wohl leichter zugänglich als die immerhin noch in, sei es auch noch so feine, Bröcklein eingeschlossenen Erreger der Taubenpocke. Bei der Vaccine haben wir nicht nur endlich ein Material von einer anderen Tierspecies, sondern auch von anderer Beschaffenheit (hier Lymphe von Kalb, dort Hautemulsionen von der Taube). Auch sind, da die Vaccineversuche fast 4 Jahre früher angestellt worden sind, natürlich nicht dieselben Lösungen der Desinfizientien angewandt worden. Endlich war auch die Prüfungstechnik insofern verschieden, als wir bei den beiden ersten Virusarten im Tierversuch auf die Abtötung hin prüften und wiederum bei verschiedenen Tierspecies mit verschiedenen Virusarten (sicher nicht ganz gleicher Virulenz) und mit verschiedenen Methoden, während wir in den Prodigiosusversuchen als Reagens für die Abtötung einen künstlichen Nährboden benutzten.

Wenn wir von diesen unvermeidlichen Ungleichheiten in der Technik absehen, so ergeben sich gewisse Unterschiede bei der Einwirkung der verschiedenen Desinfektionsmittel auf die drei Virusarten, die aber nicht erheblich sind. Im Stab 8 bis 10 der Tabelle sind sie aufgezeichnet. Dabei bedeutet:

> stärkere Wirkung,

= zwischen zwei Stäben: kein Unterschied,

(>) |
(<) | kein wesentlicher Unterschied im einen oder anderen Sinn.

Was zunächst die Vaccine anlangt, so fällt die erheblich stärkere Wirkung des Saponins auf; auch Antiformin und

Wasserstoffsuperoxyd wirken hier etwas stärker als bei den anderen beiden. Es ist aber nicht ausgeschlossen, daß gerade bei diesen Mitteln auch geringe Unterschiede im Ausgangsmaterial die Schuld tragen. Gegenüber Sublimat, Silbernitrat, Phenol und Chloroformwasser sehen wir eine größere Resistenz der Vaccine.

Vergleichen wir nun Taubenpocke und Prodigiosus, wo die Versuche, wie schon gesagt, mit den gleichen Lösungen und gleichzeitig angestellt wurden, so haben wir eine geringere Resistenz der Taubenpocke nur beim Silbernitrat, Natriumarseniat und Natriumarsenit. Ein Unterschied zwischen Arseniat und Arsenit, wie ihn Friedberger und Joachimoglu¹⁾ in anderen Versuchen an Bakterien und Protozoen und für die Hefegärung festgestellt haben, zeigt sich auch hier deutlich zugunsten des dreiwertigen Arsenits.

Die meisten Mittel wirken auf beide Virusarten gleich intensiv. Bemerkenswert ist, daß die arsenige Säure den Prodigiosus stärker abtötet, während bei den Arsensalzen das Verhalten umgekehrt ist. Auch die geringere Resistenz des Prodigiosus gegenüber dem Chinin erscheint beachtenswert.

Endlich wäre die geringere Widerstandsfähigkeit des Vaccinevirus sowohl wie der Taubenpocke gegenüber der Galle und den gallensauren Salzen, sowie den ätherlöslichen Bestandteilen der Galle zu erwähnen. Da aber auch hier die Differenz, wenigstens zwischen Taubenpocke und Prodigiosus, sehr gering ist, da es auch Bakterien gibt, die durch die Galle intensiv abgetötet werden [Pneumococcus, Neufeld²⁾], so kann man aus diesen Versuchen nicht einmal eine Verschiedenheit der Vaccine und Taubenpocke von Bakterien folgern.

Die Versuche in ihrer Gesamtheit geben überhaupt nicht prinzipielle Unterschiede, die es erlauben würden, über die Natur der beiden invisiblen Virusarten etwas auszusagen. Vielen Desinfektionsmitteln gegenüber verhalten sich Vaccine und Taubenpocke wie Bakterien, zu denen sie ja sicher nicht gehören. Aber eins zeigen die Desinfektionsversuche doch mit ab-

1) Ueber die Abhängigkeit der keimtötenden und entwicklungshemmenden Wirkung von der Valenz. Biochem. Zeitschr., Bd. 79, 1917.

2) Neufeld, Ueber eine spezifische bakteriologische Wirkung der Galle. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 34, 1900.

soluter Sicherheit, daß es sich entgegen der Annahme von Sanfelice auch bei dem Taubenpockenvirus um ein *Contagium animatum* handeln muß.

Versuche über das Nukleoproteid aus Taubenpocke (Sanfelice).

Wie schon oben erwähnt, hatte das Sanfelice trotz der hohen Infektiosität und der sich anschließenden Immunität¹⁾ in Zweifel gezogen und einen „flüssigen Ansteckungsstoff“ angenommen, der lediglich den pathologischen Prozeß auslöst und in Passagen erhält. Er folgerte die Unmöglichkeit des Vorhandenseins eines lebenden Erregers daraus, daß bei der zur Darstellung des giftigen Nukleoproteids notwendigen, bis zu 24 Stunden dauernden Behandlung mit Kalilauge und nachheriger Ausfällung mit Essigsäure ein lebendes Virus sicher vernichtet werden müsse.

Tatsächlich konnten wir denn auch in eigenen Versuchen mit der von uns vorher geübten Methode nachweisen, daß 1-proz. Kaliumhydratlösung und 1-proz. Essigsäure das Pockenvirus und zwar die Kalilauge schon innerhalb 5 Minuten töten. Ich lasse nachstehend einen entsprechenden Versuch folgen.

Tabelle XIX. Kalilauge.

Nummer der Tauben	Ver- dünnung der Kalilauge	Ver- dünnung der Tauben- pocke	Ein- wirkungs- dauer der Kalilauge	A. Taubenpocke								B. Prodigiosus
				Beobachtung nach Tagen								Resultat
				3	4	5	6	7	8	9	10-14	
55	2:100	1:20	5 Min.	—	—	—	—	—	—	—	—	—
56	2:100	1:20	18 Std.	—	—	—	—	—	—	—	—	—
57	2:100	1:20	24 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—
58	—	1:20	5 Min.	—	+	+	++	++	++	++	++	++
59	—	1:20	18 Std.	—	+	+	++	++	++	++	++	++
60	—	1:20	24 „	—	+	+	++	++	++	++	++	++

1) Sanfelice hält diese Immunität nicht für eine „im wahren Sinn des Wortes“, weil das Virus immer noch sowohl in der Haut wie in den Organen vorhanden ist, was sich durch Verimpfung in die Haut gesunder Tauben nachweisen läßt. Er selbst berichtet noch über gelungene Infektionsversuche mit den Organen von Tauben 71 Tage nach der Verimpfung des Virus. Demgegenüber sei darauf hingewiesen, daß überhaupt wahrscheinlich, wie Friedberger an anderer Stelle (Berl. klin. Wochenschr., 1917, No. 25) betont hat, jegliche „Immunität“ nur so lange anhält, als Reste des betreffenden Infektionserregers im Körper noch vorhanden sind.

Tabelle XX. Essigsäure

Nummer der Tauben	Ver- dünnung der Essig- säure	Ver- dünnung der Tauben- pocke	Ein- wirkungs- dauer der Essig- säure	A. Taubenpocke							B. Prodigiosus	
				Beobachtung nach Tagen							Resultat	
				3	4	5	6	7	8	9		10-14
61	2:100	1:20	5 Min.	—	—	—	+	+	+	++	++	2 Kolonien
62	2:100	1:20	18 Std.	—	—	—	—	—	—	—	—	
63	2:100	1:20	24 „	—	—	—	—	—	—	—	—	
58	—	1:20	5 Min.	—	+	++	++	++	++	++	++	++
59	—	1:20	18 Std.	—	+	++	++	++	++	++	++	++
60	—	1:20	24 „	—	+	++	++	++	++	++	++	++

Wir sind nun daran gegangen, die Versuche von Sanfelice selbst unter genauer Einhaltung der von ihm angewandten Technik zu wiederholen.

Zu dem Zweck wurde der ganze erkrankte Teil der Brusthaut einer mit Pocke geimpften Taube auf der Höhe der Infektion in kleine Stückchen geschnitten und mit Kieselsand in einem Mörser sorgfältig verrieben. Der entstehende Brei wurde mit 4 Gewichtsteilen 1-proz. Kalilauge verrührt. Nach 14-stündigem Verbleiben bei Zimmertemperatur wurde durch Leinen filtriert. Zu dem schleimig-dickflüssigen Filtrat wurde im doppelten Volum 1-proz. Essigsäure zugesetzt. Der entstehende flockige kolloidale Niederschlag wurde auf einem glatten Papierfilter gesammelt, mit sterilem destillierten Wasser gewaschen und mittels eines sterilen Spatels direkt auf die zuvor entflederte Brusthaut gesunder Tauben gebracht. Zur Kontrolle wurde folgender Versuch angestellt:

I. Eine kleine Menge des dickflüssigen, schleimigen Filtrats wurde gleichzeitig in gleicher Weise auf die zuvor entflederte Brusthaut einer gesunden Taube übertragen.

II. Aus der normalen Brusthaut einer normalen Taube wurde in derselben Weise ein „Nukleoproteid“ gewonnen und in gleicher Weise verimpft. Das Resultat eines derartigen Versuches zeigt die folgende Tabelle.

Siehe Tabelle XXI auf p. 484.

Wiederholungen führten stets zu den gleichen Ergebnissen. Unsere Versuche bestätigen also insofern vollinhaltlich die von Sanfelice, als tatsächlich dieses „Nukleoproteid“ sich als infektiös erwies. Aber Sanfelice fand das Gemisch aus

Tabelle XXI. Versuch mit Nukleoproteiden.

Nummer der Tauben	Geimpft mit	Beobachtung nach Tagen							
		3	4	5	6	7	8	9	10—14
48	Nukleoproteid aus der kranken Brusthaut	—	+	+	++	++	++	++	++
49	Material aus dem dickflüssig-schleim. Filtrat	—	+	+	++	++	++	++	++
50	Material aus der normalen Brusthaut	—	—	—	—	—	—	—	—

Brusthautbrei und Kaliumhydratlösung unwirksam. Er folgerte daraus, „daß die 1-proz. Kaliumhydratlösung das Virus des Epithelioma contagiosum nicht zerstört, sondern nur dessen Einwirkung verhindert“. Er nimmt an, daß das Virus sich „wie eine Säure“ verhält, „insofern als es zusammen mit einem Alkali seine Wirksamkeit verlieren, dagegen, vermittelt einer Säure von dem Alkali losgetrennt, seine Freiheit wiedererlangen und seine schädliche Wirkung von neuem auf die Epithelzellen ausüben dürfte“.

Hiermit stehen nun unsere Versuche insofern im Widerspruch, als das schleimig-dickflüssige Filtrat aus Pockenvirus und Kalilauge sich jedesmal ohne weiteres als voll virulent erwies.

Vergleichen wir aber im übrigen unsere Nachprüfungen der Versuche von Sanfelice mit unseren vorherwähnten, in denen wir bei direkten Kontakt von Taubenpockenvirus mit Kalilauge oder Essigsäure eine schnelle Abtötung feststellen konnten (Tabelle XIX, XX), so scheint in der Tat das Ergebnis unserer Nachprüfungen der Versuche von Sanfelice zunächst zu einer Bestätigung der Auffassung dieses Autors zu führen.

Betrachtet man aber die Versuchsanordnung genauer, so bestehen doch erhebliche Unterschiede. Wir selbst haben in allen unseren Desinfektionsversuchen, auch in denen mit Kalilauge und Essigsäure, das erheblich mit Kochsalzlösung verdünnte Virus nach sorgfältigster Emulsionierung durch Filtrierpapier filtriert, wobei nur sehr feine Partikelchen in der Virusaufschwemmung übrigblieben, die leicht der Einwirkung des Desinfektionsmittels erliegen. In den Versuchen von Sanfelice dagegen und bei unserer Nachprüfung, in der wir uns diesmal genau an seine Technik hielten, wird das unverdünnte

Virus mit Sand verrieben und dann mit dem gleichen Volum Kalilauge versetzt, wobei natürlich grobe Partikel übrigbleiben, in deren Innern das Virus auch der 24-stündigen Einwirkung der Kalilauge entgehen kann. Während wir sonst durch Papier filtrierten, filtriert Sanfelice und auch wir bei dem letzt-erwähnten Versuch durch Leinen, wobei natürlich auch grobe Partikel in das Filtrat hineingelangen müssen. Dies erklärt zur Genüge die Infektiosität dieses Filtrats im Gegensatz zu dem nach 24-stündiger Kalilaugeeinwirkung in unseren Versuchen mit verdünntem Virus und Papierfiltration erhaltenen.

Auch bei der Ausfällung mit Essigsäure werden natürlich in der Versuchsanordnung von Sanfelice Partikel, die noch unversehrtes Virus enthalten, mit in den Niederschlag hineingerissen.

Damit entfällt also jede Beweiskraft für die Behauptung, daß das Vogelpockenvirus kein belebtes vermehrungsfähiges sei, sondern ein „flüssiger Ansteckungsstoff“, „ein Giftstoff“, der auf ganz verschiedene Weise einwirkt, je nach den Dosen.

Sonstige Argumente, die Sanfelice gegen die parasitäre Natur des Epithelioma contagiosum der Taube vorbringt, sind nicht stichhaltig. Die geringere Ausbildung der Erscheinungen und die Verzögerung der Inkubation bei der Kerzenfiltration, sowie bei der Virusverdünnung müssen nicht durch das Vorhandensein eines unbelebten Giftstoffes erklärt werden. Verschiedene Inkubation und verschiedene Schwere der Symptome in ihrer Abhängigkeit von der Infektionsdosis haben wir bei den meisten Infektionskrankheiten. Es sei nur auf das Verhalten des Meerschweinchens bei der experimentellen Tuberkulose hingewiesen.

Daß beim Zentrifugieren die Infektiosität von verdünntem Pockenmaterial in den oberen Flüssigkeitsschichten nicht abnimmt, erklärt sich teils wohl aus dem feinen Korn derartiger Mikroorganismen, teils aus der Möglichkeit des Wiederaufwirbelns beim Auslauf der Zentrifuge. Es sei in dieser Beziehung nur an die Versuche von Friedberger und Joachimoglu bei der Filtration von Stärke erinnert¹⁾.

1) Friedberger und Joachimoglu, Ueber die vermeintliche Anaphylatoxinbildung aus Stärke. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 84, 1917.

Versuche mit ultraviolettem Licht.

Anhangsweise seien dann noch Versuche über den Einfluß des ultravioletten Lichtes auf das Virus der Taubenpocke mitgeteilt. Versuchsanordnung: 1 g Brusthaut einer erkrankten Taube wird im sterilen Mörser mit der Schere fein zerkleinert, mit Kieselsand verrieben und unter allmählichem Zusatz der 20-fachen Menge physiologischer Kochsalzlösung zu einem feinen Brei zerrieben. Filtration durch steriles Filtrierpapier; Zusatz von Prodigiosus wie in den vorausgegangenen Versuchen. Das Gemisch wird in Quarzkapillaren gefüllt und in einer Entfernung von 25 cm bestrahlt.

Die Kontrollen wurden gleichfalls, jedoch in schwarzem Papier sorgfältig eingewickelt, der Lampe ausgesetzt. Für jede Taubenimpfung wurde der Inhalt von 9 Quarzkapillaren gesammelt. Das Resultat dieser Versuche zeigt die nachstehende Tabelle.

Siehe Tabelle XXII auf p. 487.

Aus ihr ergibt sich, daß die Resistenz der Taubenpocke etwas größer erscheint als die der Prodigiosusbacillen, was aber wohl lediglich auf die leichtere Zugänglichkeit der Bacillen im Vergleich zu den noch in feinsten Partikeln eingeschlossenen Pockenerregern beruht. Bei Zusatz eines fluoreszierenden Farbstoffes tritt die von Tappeiner und Jodlbauer entdeckte Verstärkung der abtötenden Wirkung deutlich hervor. Das zeigt die nachstehende Tabelle.

Siehe Tabelle XXIII auf p. 487.

Es ergibt sich, daß bei Gegenwart von Fuchsin die Abtötung, die bei Quarzlicht allein in 10 Minuten noch nicht erfolgt ist, innerhalb dieser Zeit eintritt bis zu einer Fuchsinverdünnung von 1:10 000 000. Bestrahlung allein und Farbstoff ohne Bestrahlung töten nicht ab.

Bei 20 Minuten langer Bestrahlung ist aber auch in der Kontrolle ohne Fuchsin alles abgetötet. Der Prodigiosusbacillus erwies sich auch hier weniger resistent; Abtötung bereits nach 5 Minuten.

Fütterungsversuche.

Burnet hat bei Verfütterung von virushaltigem Getreide Auftreten der Pocken am Augenlid bei der Taube beobachtet.

Tabelle XXII. Bestrahlung von Taubenpocke und Prodigiosus ohne Farbstoff.

Nummer der Taube	Verdünnung der Taubenpocke	Aufschwemmung des Prodigiosus	Dauer der Bestrahlung	Resultat mit Taubenpocke										Resultat mit Prodigiosus
				3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
95	1:20	2 Tropfen	5 Min.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
96	1:20	dgl.	10 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
97	1:20	"	20 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
98	1:20	"	30 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
99	1:20	"	1 Std.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
100	1:20	"	1 1/2 Std.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
105	1:20	"	2 Std.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kontrolle	1:20	"	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle XXIII. Bestrahlung von Taubenpocke und Prodigiosus mit Farbstoff.

Fuchsin- verdünnung	Verdünnung der Taubenpocke	Aufschwem- mung des Prodigosus	Resultat mit Taubenpocke															Resultat mit Prodig.																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
			Beobachtung nach Tagen					Beobachtung nach Tagen					Beobachtung nach Tagen					5 Min. bestrahlt	10 Min. bestrahlt																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
			5 Minuten bestrahlt					10 Minuten bestrahlt					20 Minuten bestrahlt																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
			3	4	5	6	7	8	9	10 bis 14	3	4	5	6	7	8	9	10 bis 14	3	4	5	6	7	8	9	10 bis 14																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																						
1:1000	1:20	2 Tropf.	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—</

In unseren Fütterungsversuchen gingen wir so vor, daß wir die Brusthaut einer schwer an Pocken erkrankten Taube in der üblichen Weise fein zerschnitten, mit Kieselsand verrieben und mit Kochsalz versetzten. In diese Flüssigkeit wurden Erbsen gebracht, die Mischung kam in den Brutschrank. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde und 24 Stunden erhielten Tauben, die zuvor an der Brusthaut entfedert waren, je 24 mit diesem Material getränkte Erbsen mittels einer Pincette in den vorsichtig offengehaltenen Schnabel hineingeschoben. Dabei wurde sorgfältig darauf geachtet, daß keine weitere Berührung des infizierten Materials mit dem Körper der Taube stattfand, vor allen Dingen auch keine Berührung des Schnabels selbst. Unter diesen Bedingungen blieben die Tauben von Pocken frei.

Zusammenfassung.

1) Die Einwirkung einer Reihe von Desinfektionsmitteln auf das Virus der Vogelpocke wird im Vergleich zu Bakterien (*Prodigiosus*) untersucht. Zusammenfassende Tabelle siehe p. 479.

2) Die Versuche sprechen nicht für die Ansicht von Sanfelice, wonach das Taubenpockenvirus kein lebender Erreger sei.

3) Die Versuche von Sanfelice über die Darstellung eines Nukleoproteids aus Taubenpockenhaut, das die Krankheit bedingen soll, werden abgelehnt.

4) Mitteilung von Versuchen über die Einwirkung des ultravioletten Lichtes auf das Virus der Taubenpocke.

5) Die Infektiosität des Taubenpockenvirus durch Verfütterung (Burnet) wird auf Grund eigener Versuche bestritten. (G. C.)

Nachdruck verboten.

[Aus der Medizinischen Universitätsklinik Basel (Vorsteher:
Prof. Dr. R. Staehelin).]

Ueber die anaphylaktische Reaktion der Leber.

Von **Franz Rumpf**, Basel.

(Eingegangen bei der Redaktion am 27. Juni 1918.)

Die herrschende Theorie der Anaphylaxie, die hauptsächlich von Friedberger¹⁾ begründet und ausgebaut wurde, führt alle Erscheinungen des anaphylaktischen Shocks auf rein humorale, im Blute sich abspielende Vorgänge zurück. Sie nimmt an, daß bei der Reinjektion des homologen Antigens in den Organismus eines präparierten, also antikörperhaltigen Tieres eine Reaktion zwischen Antigen und Antikörper, eine Eiweiß-Antieißreaktion mit notwendiger Beteiligung des Komplements stattfindet und daß sich dabei ein giftiges Eiweißabbauprodukt bildet, das Anaphylatoxin.

Demgegenüber mehren sich die Stimmen und Beweisgründe, die auf eine maßgebende Beteiligung der Zellen und auf eine veränderte Reaktionsfähigkeit des Gewebes beim Zustandekommen des Shocks hindeuten und die das bloße Zusammentreffen von Antigen und Antikörper im komplementhaltigen Blute des empfindlichsten Tieres für nicht hinreichend halten, um die Symptomatologie des anaphylaktischen Shocks restlos zu erklären.

Es besteht erstens die für alle humoralen Theorien so unbequeme Latenzperiode der passiven Uebertragung.

Schon Otto²⁾ schloß daraus, daß eine Verankerung der Antikörper an die Zellen der Tiere stattfinden muß, ehe die Reaktionsfähigkeit des Organismus gegenüber dem normalen Serum geändert wird.

1) E. Friedberger, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Ther., Bd. 4, 1910, p. 636, IV. Mitteilung, und die folgenden Mitteilungen des Autors in späteren Jahrgängen, insbesondere Bd. 18, 1913, p. 227, XXXVII. Mitteilung.

2) Otto, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle-Wassermann, 1907, 2. Erg.-Bd., p. 247; Münch. med. Wochenschr., Bd. 54, 1907, No. 34, p. 1665.

Dieses Verhalten verfolgten Doerr und Ruß¹⁾ in quantitativ exakten Versuchen. Die Tatsache, daß sich die passive anaphylaktische Versuchsanordnung nicht umkehren läßt, d. h. daß die Injektion von Antigen vor der Einverleibung der Antikörper keine Anaphylaxie erzeugt, ist ohne die Annahme einer Verankerung schwer verständlich.

Coca²⁾ findet bei Einverleibung sensibilisierender Antikörper in die Zirkulation eines anderen Tieres, daß jene während der Latenzzeit keine Veränderung erleiden, die sie befähigen würde, bei der Einführung in ein zweites Tier sofortige Ueberempfindlichkeit hervorzurufen. Ebenso verliefen die Experimente von Doerr³⁾ negativ, dem anaphylaktischen Reaktionskörper durch Verweilen in der Peritonealhöhle von Meerschweinchen die fehlende momentane Reaktion zu verleihen. Diese Versuche zeigen, daß es bisher nicht gelungen ist, eine Veränderung des Antikörpers im Blute des sensibilisierten Tieres nachzuweisen.

Das Verhalten des Antikörpers im zirkulierenden Blute liefert zweitens Beweise gegen die humorale Theorie.

Weil⁴⁾ zeigt, daß der anaphylaktische Antikörper rasch aus der Zirkulation verschwindet, wenn er normalen Meerschweinchen injiziert wird. Nichtsdestoweniger bleiben die Tiere hochgradig passiv anaphylaktisch; sie sind es sogar noch zu einer Zeit, zu der die gesamte Blutmenge nicht mehr imstande ist, ein anderes normales Meerschweinchen zu präparieren, zu welcher Zeit mithin die Antikörper größtenteils aus dem Blute eliminiert sind. Auch bei aktiver Sensibilisierung weist Weil nur wenig Antikörper in der Zirkulation nach. Bei der Reinjektion des Antigens erreichen die anaphylaktischen Symptome das Maximum ihrer Intensität, obgleich sich nur wenig Antikörper im Blute befinden.

In nach genauen quantitativen Prinzipien ausgeführten Versuchen verfolgten Fenyvessy und Freund⁵⁾ das Verhalten der Mengen des anaphylaktischen Antikörpers im Blute in verschiedenen Intervallen. Sie verglichen den Gehalt des Blutes an Antikörpern mit dem jeweiligen Grade der anaphylaktischen Reaktionsfähigkeit des Tieres und fanden, daß die bloße Anwesenheit von Antikörpern im Blute nicht genügt, um den Shock auszulösen. Ferner zeigen die Autoren, daß die Gegenwart der Antikörper in der Zirkulation nicht erforderlich ist. Da die zur Anaphylaktisierung

1) Doerr und Ruß, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Ther., Bd. 3, 1909, p. 181, III. Mitteilung; Bd. 3, 1909, p. 706, IV. Mitteilung.

2) Coca, ebenda, Bd. 20, 1914, p. 622.

3) Doerr, Ergebnisse der Immunitätsforsch., exp. Therapie, Bakt. u. Hygiene, Bd. 1, 1914, p. 283.

4) Weil, Journ. of med. Research, Vol. 27, 1913, p. 497; Vol. 29, 1913, p. 233.

5) Fenyvessy und Freund, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Ther., Bd. 22, 1914, p. 59.

notwendige Antikörpermenge schon nach einer Stunde die Blutbahn verlassen hat, während die Inkubation noch weiter anhält, so müssen wir schließen, daß der bloße Uebertritt des Antikörpers in die Gewebe nicht genügt, sondern daß sich in der zweiten Phase der Latenzperiode wichtige Prozesse abspielen, die erst die volle Reaktionsfähigkeit des Organismus herbeiführen.

Injiziert Weil¹⁾ einem normalen Meerschweinchen in eine Vene Antikörper, in eine andere Antigen, oder bringt er ein Gemisch beider Faktoren direkt in die Blutbahn, so treten keine nennenswerten Störungen auf. Daraus folgert Weil, daß eine Vereinigung von Antigen und Antikörper in der Zirkulation überhaupt keine Schädigung des betreffenden Tieres involviert; im Gegenteil, der zirkulierende Antikörper schützt die Zellen vor der Einwirkung des Antigens, indem er letzteres neutralisiert. Das aktiv und passiv sensibilisierte Tier reagiert nur deshalb anaphylaktisch, da es nicht genügend Antikörper im Blute hat. Da einerseits die größten Mengen von anaphylaktischen Antikörpern in der Blutbahn nicht genügen, um ein Meerschweinchen sofort ohne Latenz anaphylaktisch zu machen, und da andererseits die Entfernung der Antikörper aus der Zirkulation eine bestehende aktive oder passive Eiweißüberempfindlichkeit nicht beeinträchtigt, läßt sich der Schluß nicht umgehen, daß der anaphylaktische Prozeß nicht in den Körperflüssigkeiten, sondern in fixen Gewebszellen statthat.

Die Tatsache, daß jedes einzelne Organ eines sensibilisierten Tieres durch Reinjektion des Antigens eine starke Veränderung seiner Reaktionsfähigkeit erleidet, macht zum mindesten wahrscheinlich, daß in den Gewebszellen anaphylaktische Vorgänge stattfinden.

Auer und Lewis²⁾ fanden den anaphylaktischen Tod bei Meerschweinchen durch Asphyxie bedingt, die offensichtlich durch einen tetanischen Krampf der glatten Bronchialmuskulatur hervorgerufen wird. Der Krampf ist peripheren Ursprungs.

Beim Hunde weisen Biedl und Kraus³⁾ nach der intravenösen Reinjektion gleichzeitig mit dem Aufregungszustand des Tieres eine allmählich zunehmende typische Blutdrucksenkung nach, die in einer Verringerung des peripheren Widerstandes, in einer hochgradigen peripheren Vasodilatation ihre Ursache hat. Diese beruht auf einer Lähmung des peripheren vasomotorischen Apparates.

1) Weil, s. oben l. c.

2) Auer and Lewis, The Journ. of exp. Med., Vol. 12, 1910, p. 151; Auer, ebenda, Vol. 12, 1910, p. 638.

3) Biedl und Kraus, Wiener klin. Wochenschr., Bd. 22, 1909, p. 363; Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Ther., Bd. 7, 1910, p. 205.

Mauntner und Pick¹⁾ fanden in ihrer Arbeit über die durch Shockgifte erzeugten Zirkulationsstörungen, daß die Carnivorenleber im anaphylaktischen Shock mit einem Krampfe der Leberkapillaren reagiert, während die Herbivorenleber sich völlig indifferent verhält. Bei verschiedenen Tierspecies konstatierten sie ungleiches Verhalten der Lungen- und Darmgefäße. Sie bestimmten den Füllungs- und Kontraktionszustand der Gefäße teils am lebenden Tiere onkometrisch und durch Druckmessung, teils an dem überlebenden Organ bei künstlicher Durchströmung.

Das Herz wird bei allen Tieren primär in Mitleidenschaft gezogen, je nach der Tierspecies in verschiedenem Grade. Robinson und Auer²⁾ sahen im Elektrokardiogramm während des anaphylaktischen Shocks bei Hunden Veränderungen der Herztätigkeit auftreten. Mit der Blutdrucksenkung hängen sie nicht zusammen. Da die Störungen nach dem Durchschneiden der Vagi zum Vorschein kommen, sind sie peripherer Natur und beruhen auf einer primären Läsion des Herzens. Im anti-anaphylaktischen Zustand beeinflußt eine neuerliche Antigeninjektion den Herzmuskel nicht mehr.

Hecht und Wengraf³⁾ konstatierten extrasystolische Störungen, paroxysmale Tachycardie und Block beim Kaninchenherz.

Die gleichen Resultate erhielten Robinson und Auer⁴⁾.

Nach Friedberger und Mita⁵⁾ lassen sich Frösche aktiv sensibilisieren, wobei hauptsächlich bei der Reinjektion des Antigens das Herz geschädigt wird.

Weinberg und Seguin⁶⁾ sehen in der Bluteosinophilie, welche sie 1—3 Tage nach der präparierenden Antigendosis auftreten sahen, eine bloße Koinzidenz und stellen sich vor, daß das Antigen direkt reizend auf die Organe des hämopoëtischen Systems einwirkt.

Hashimoto⁷⁾ fand in seiner Arbeit über Fieberstudien, daß das Wärmезentrum selbst, bzw. die dasselbe darstellenden Ganglienzellen durch die Vorbehandlung mit artfremdem Eiweiß streng spezifisch sensibilisiert werden. Die nach intracerebraler Injektion des zugehörigen Antigens erzeugten Temperaturänderungen sind auf die spezifische Ueberempfindlichkeit des Temperaturzentrums zurückzuführen und wesens-

1) Mauntner und Pick, Münch. med. Wochenschr., Jahrg. 62, 1915, No. 34, p. 1141.

2) Robinson and Auer, The Journ. of exp. Med., Vol. 18, 1913, No. 5, p. 556.

3) Hecht und Wengraf, Zeitschr. f. exp. Med., Bd. 2, 1914, p. 271.

4) Auer and Robinson, The Journ. of exp. Med., Vol. 18, 1913, p. 450.

5) Friedberger und Mita, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Ther., Bd. 10, 1911, p. 362, XIX. Mitteilung.

6) Weinberg et Seguin, Soc. biol. Compt. rend., T. 76, 1914, p. 585

7) Hashimoto, Arch. f. exp. Path. u. Pharmak., Bd. 78, 1915, p. 370.

gleich dem anaphylaktischen Temperatursturz und anaphylaktischen Fieber, die durch intravenöse Antigenezufuhr hervorgerufen werden. Die beiden Temperaturreaktionen sind in der Hauptsache auf Erregbarkeitssteigerung mit erhöhter Erschöpfbarkeit des Wärmecentrums zurückzuführen.

Loening¹⁾ untersuchte den Gasstoffwechsel im anaphylaktischen Shock. Bei unvorbehandelten gesunden Tieren war die Seruminjektion nicht imstande, erhebliche Schwankungen der Gaswechsel- und Körpertemperaturkurve hervorzurufen; die vorbehandelten Tiere zeigten im anaphylaktischen Shock mit den schwersten Krankheitserscheinungen ein Dar-niederliegen des respiratorischen Stoffwechsels und einen Tiefstand der Eigenwärme.

Schlecht und Weiland²⁾ ergründeten die Wirkung des anaphylaktischen Shocks auf einzelne Organe mittels des Röntgenverfahrens. Sie fanden Motilitätsveränderungen des Magens und des Darmes bei Hunden und Meerschweinchen und eine Blähung der Lunge bei Meerschweinchen.

Fröhlich³⁾ experimentierte am Mesenterium des sensibilisierten Frosches und erhielt durch Applikation des Antigens auf das Mesenterium eine lokale Reaktion des Gewebes. Im Mikroskope zeigte sich ein spezifisches Oedem im lockeren, faserigen Bindegewebe, eine Stase in den Blutgefäßen, Dilatation der Gefäße und eine Verquellung der Nerven von streng spezifischer Art. Da sich an den lokalen anaphylaktischen Vorgängen die Nerven des Gewebes beteiligen, so vermittelt sich der lokale herdförmige anaphylaktische Reiz durch die Nerven reflektorisch dem Gesamtorganismus; der allgemeine Shock ist zum größten Teil reflektorische Nervenwirkung.

Nach Yamanouchi⁴⁾ zeigen Nerven sensibilisierter Tiere bei lokalem homologem Antigenezusatz eine Verminderung ihrer Erregbarkeit (gemessen mit Apparat von Dubois-Reymond).

Daß die Leber bei manchen Tierarten eine wichtige Rolle für das gesamte Vergiftungsbild spielt, geht aus den Versuchen von Manwaring⁵⁾ hervor. Er unterband temporär Aorta und Vena cava inferior oberhalb des Zwerchfells: die obere Hälfte des anaphylaktischen Hundes reagiert nun nicht mehr auf Serumeinspritzungen; die Gewebe oberhalb des Zwerchfells sind primär nicht an der anaphylaktischen Reaktion beteiligt. Indessen schützt eine vollständige Entfernung der Eingeweide vom Pylorus bis zum Rectum einschließlich des Pankreas, der Nieren, der Milz, des Uterus etc. nicht vor dem Shock. Daraus müssen wir den Schluß ziehen, daß das wesentliche primäre anaphylaktische Organ das einzige ist, das sich

1) Loening, ebenda, Bd. 66, 1911, p. 84.

2) Schlecht und Weiland, Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther., Bd. 8, 1913, p. 334.

3) Fröhlich, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Ther., Bd. 20, 1914, p. 476.

4) Yamanouchi, Annales de l'Institut Pasteur, T. 23, 1909, p. 571.

5) Manwaring, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Ther., Bd. 8, 1911, p. 1.

noch in der Bauchhöhle befindet, nämlich die Leber. Ferner schaltete Manwaring durch Unterbindungen und Umleitungen des Blutstromes die Leber total aus. Derartig vorbereitete Tiere bekommen keinen anaphylaktischen Shock bei der Reinjektion. Manwarings Versuche zeigen, daß die Reaktion wenigstens beim Hunde hauptsächlich in der Leber vor sich geht. Ob beim Meerschweinchen die Drüse eine Rolle spielt, ist unentschieden, da schon durch die Sensibilisierung der Bronchialmuskulatur unabhängig von der Leber rasch der tödliche Lungenkrampf herbeigeführt wird. Wir wissen ferner, daß gerade beim Hunde im Gegensatz zum Meerschweinchen sich der anaphylaktische Symptomenkomplex hauptsächlich im Gebiete der Baueingeweide abspielt. Es ist daher leicht begreiflich, daß mit der künstlichen Ausschaltung der Leber beim Hunde aus dem Kreislauf ein sehr großer Teil sehr reaktionsfähiger Organzellen für die Erzeugung der schweren Vergiftung ungeeignet wird und dadurch der anaphylaktische Shock entweder völlig ausbleibt oder schwach abläuft.

Auch Deneke¹⁾ fand die Leberveränderungen im Mittelpunkt des Symptomenkomplexes beim Hunde. Es gelang ihm nicht, Tiere mit Eckseher Fistel gegen homologe Antigenzufuhr anaphylaktisch zu machen. Dagegen bedurfte das Antigen der Leberpassage, um im Organismus sensibilisierend wirken zu können. Der anaphylaktische Shock ist um so stärker, je mehr Eiweiß bei der Sensibilisierung durch die Leber geht und je funktionsfähiger die Leber ist. Diese Versuche stellte er an umgekehrten Eck-Hunden an, d. h. Hunden, bei denen die Vena cava in die Vena portae eingebunden wurde, so daß der ganze Blutstrom der unteren Körperhälfte die Leber zu passieren gezwungen war.

Voegtlin und Bertheim²⁾ erhielten gleiche Resultate.

Hashimoto und Pick³⁾ zeigen, daß auch beim Meerschweinchen die Leber beim Sensibilisierungsprozeß eine Rolle spielt. Sie zerrieben die Leber ohne vorheriges Waschen zu einem halbflüssigen Brei und bestimmten das Verhältnis zwischen Gesamtstickstoff und dem durch Essigsäure unkoagulablen Stickstoff. Unter gegebener Fütterung und entsprechendem Gewicht des Tieres betrug der unkoagulable N 8 Proz. des Gesamt-N in der normalen Meerschweinchenleber. Bei der Leber sensibilisierter Meerschweinchen steigt der Gehalt an unkoagulablem N auf das Dreifache des Gehaltes normaler Meerschweinchenlebern, d. h. der unkoagulable N beträgt 22 Proz. des Gesamt-N. Bei unverändertem Gesamt-N zeigt demnach die Leber sensibilisierter Meerschweinchen eine augenfällige Anreicherung an stickstoffhaltigen Körpern, die nicht den genuinen Eiweißkörpern angehören, sondern Eiweißspaltprodukte darstellen. Da dies auch mit Präparierung minimalster Mengen von Eiweiß der Fall ist, so können die Spaltprodukte nicht von diesem stammen, sondern nur vom Zerfall

1) Deneke, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Ther., Bd. 20, 1914, p. 501.

2) Voegtlin and Bertheim, Journ. of Pharm. and exp. Ther., 1911, No. 6.

3) Hashimoto und Pick, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 76, 1914, p. 89.

des körpereigenen Eiweißes. In anderen Organen findet man keine vermehrte Proteolyse. Entmilzt man die Meerschweinchen und sensibilisiert sie unmittelbar darauf, so werden die Tiere anaphylaktisch, der Abbau der Leber, die sich wie beim nicht sensibilisierten Tiere verhält, bleibt aus. Der intravitale Abbau steht also mit dem Shock nicht in ursächlicher Beziehung, er ist ein selbständiges, den übrigen Erscheinungen koordiniertes Phänomen und kann als Ausdruck der spezifisch gesteigerten Funktion aufgefaßt werden.

In einer späteren Arbeit befassen sich Pick und Hashimoto¹⁾ mit der postmortalen Autolyse der Leber. Es gelingt sowohl durch Zusatz von Serum eine Sensibilisierung des Leberbreies normaler Meerschweinchen, die in einer bedeutenden Steigerung des autolytischen postmortalen Leberzerfalles ihren Ausdruck findet, als auch durch Zufügen von homologem Antigen zum sensibilisierten Leberbrei eine Shockwirkung, die sich in einer völligen Hemmung oder bedeutenden Verminderung der Leberautolyse kundgibt. Diese spezifische Shockwirkung kann auch erzeugt werden durch homologen Antigenzusatz zum autolysierten Brei sensibilierter Meerschweinchen.

Ferner spricht gegen eine humorale Theorie, daß der anaphylaktische Zustand bestehen bleibt, wenn das Blut eines sensibilisierten Meerschweinchens entfernt und durch normales Blut eines gesunden Tieres ersetzt wird.

Manwaring²⁾ wusch das Blut eines mit Serum sensibilisierten Hundes mit Ringerlösung aus und ersetzte es durch das Blut von zwei oder noch mehr großen Hunden. Obgleich ein solches Tier von seiner persönlichen Blutmenge nur noch geringe Spuren besitzen kann, so ist es imstande, auf Serumeinspritzungen stark zu reagieren. Der Autor zieht den Schluß, daß das bei diesem Tiere noch vorhandene „Anaphylaktin“ Körper darstellt, die an fixe Gewebszellen gebunden sind.

Coca³⁾ durchspülte sensibilisierte Meerschweinchen mit dem defibrierten Blute eines normalen Meerschweinchens in solcher Menge, um schätzungsweise das Blut des Versuchstieres bis auf einen kleinen Rückstand zu entfernen. Aktiv und passiv sensibilisierte Meerschweinchen, denen auf die Weise ihr eigenes Blut entzogen wurde, blieben im höchsten Grade überempfindlich.

Beweisend für den zellulären Sitz der Reaktion in den einzelnen Organen sind die Versuche, die an isolierten, vom Blute und Serum befreiten Geweben ausgeführt wurden.

1) Pick und Hashimoto, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Ther., Bd. 21, 1914, p. 237.

2) Manwaring, ebenda, Bd. 8, 1911, p. 1.

3) Coca, ebenda, Bd. 20, 1914, p. 622.

Schultz¹⁾ isolierte einzelne Gewebsarten, vornehmlich glatte Muskelfasern aus dem Darne, dem Uterus, der Blase, der Aorta etc. und prüfte ihre Reaktionsfähigkeit beim Kontakt mit verschiedenem Eiweißantigen. Schon die glatten Muskelfasern normaler Meerschweinchen ziehen sich bei der Einwirkung artfremder Sera sofort zusammen; waren die Tiere sensibilisiert, so zeigte sich auf homologen Antigenzusatz ein viel höherer Grad von Kontraktilität.

Dale²⁾ durchspülte die Gefäße des Uterus mit Ringerlösung, um das Blut und das Serum vollständig aus dem Organ zu entfernen, und suspendierte ihn in ein Bad von Ringerlösung. Die Kontraktionen verzeichnete ein Myograph, das Eiweißantigen wurde dem Bade zugesetzt. Dale konstatierte: Der Uterus eines aktiv oder passiv präparierten Meerschweinchens kontrahiert sich schon bei Zusatz des Antigens in Verdünnungen 1:100 000, während ein normaler Uterus nicht reagiert. Heterologe Antigene wirken nicht als Reiz. Hatte der anaphylaktische Muskel auf Antigenkontakt mit maximaler Kontraktion geantwortet, so erwies er sich als desensibilisiert, als antianaphylaktisch; erneute Einwirkung von Antigen erzielte keinen Effekt, wohl aber konnte ein solcher in vitro desensibilisierter Muskel wieder passiv resensibilisiert werden, wenn man ihn einige Stunden in antikörperhaltiges Serum brachte. Der normale Uterus ließ sich passiv empfindlich machen, sobald man das normale Organ von den Gefäßen aus mit antikörperhaltiger Flüssigkeit durchspülte und diese wieder mit Ringerlösung auswusch.

Dale konnte in der isolierten, von Ringerlösung durchspülten Lunge einen Bronchialkrampf auslösen, sobald er der Durchströmungsflüssigkeit das Antigen zusetzte. Dieser Krampf darf nach Biedl und Kraus³⁾ als zureichende Ursache des Shocks und des akuten Exitus beim Meerschweinchen gelten.

Um den Einwand abzuweisen, daß die Gewebsspalten Serum enthalten, sensibilisiert Weil⁴⁾ Meerschweinchen passiv mit Serum von Kaninchen, die mit Pferdeserum vorbehandelt wurden und die reichlich Antikörper enthalten. Er prüfte die nicht vom Blute ausgewaschenen Uteri gegenüber dem Antigen. Trotz reichlichem Antikörpergehalt blieb jede Reaktion aus. Weil konnte anderseits in gleicher Versuchsanordnung mit einem Serum, das wenig Antikörper enthielt heftige Kontraktionen des mit Ringerlösung ausgewaschenen Uterus auslösen, wenn er zwischen Sensibilisierung und Prüfung einige Stunden zuwartete. Alle Momente, welche die spezifische Ueberempfindlichkeit der Tiere beeinflussen, modifizieren auch gleichsinnig die Reaktionsfähigkeit des Uteruspräparates und umgekehrt, wie die Untersuchungen bei abklingender passiver oder entstehender aktiver Anaphylaxie, besonders auch die Experimente am

1) Schultz, Public Health and Marine Hosp. Hygienic Laboratory Bulletin No. 80, 1912; Journ. of Pharm. and exp. Ther., Vol. 1, 1910, p. 549.

2) Dale, Journ. of Pharm. and exp. Ther., Vol. 4, 1913, p. 167.

3) Biedl und Kraus, s. oben l. c.

4) Weil, Journ. of med. Research, Vol. 30, 1914, p. 87.

Uterus von total oder partiell desensibilisierten Meerschweinchen lehren. In einer neueren Arbeit entfernt Weil¹⁾ unmittelbar nach der passiven Sensibilisierung den Uterus. Die Reaktionsfähigkeit entwickelt sich erst nach 6 Stunden, entsprechend der Latenzperiode der passiven Anaphylaxie.

Massini²⁾ weist die anaphylaktische Reaktion leicht und objektiv am in Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm nach. Bei aktiver und passiver Anaphylaxie zeigt sich beim Zusatze des Antigens ein starkes Ansteigen der Kurve nach kurzer Latenz von einigen Sekunden. Durch eine neue Zugabe von Serum läßt sich die Reaktion nicht mehr auslösen: der Darm ist antianaphylaktisch geworden. Die gleichen Resultate erhielt Massini, wenn er das Gefäßsystem des Tieres vor Entnahme des Darmes mit Ringerlösung so lange durchspülte, bis sie klar floß.

Cesaris-Demel³⁾ durchströmten das überlebende Herz von normalen und sensibilisierten Kaninchen und Meerschweinchen mit Ringerlösung allein, anderseits mit Ringerlösung nach Zusatz des anaphylaktisierenden Serums. Im letzteren Falle zeigte sich starke toxische Wirkung aufs Herz.

Launoy⁴⁾ durchspülte das isolierte Herz sensibilisierter Meerschweinchen mit Ringerlösung, der das betreffende Antigen zugesetzt war, und konstatierte typische Störungen (Tachycardie, Herabsetzung des Schlagvolumens, diastolischer Stillstand etc.). Das Herz, das einen anaphylaktischen Shock durchgemacht hat, ist gegen neuen Serumzusatz unempfindlich.

Unsere Versuche.

Einen weiteren Beitrag für den zellulären Sitz des Shocks konnten wir in Anlehnung an diese Versuche liefern. Wir wählten die Leber, ein für die Anaphylaxie sehr wichtiges Organ (s. oben die Experimente von Manwaring, Deneke, Hashimoto und Pick), das den Vorteil bot, leicht isolierbar und durchblutbar zu sein. Als Indikator nahmen wir eine beliebige Funktion: die Harnstoffsynthese aus Ammoniaksalzen, und untersuchten die Wirkung der homologen Antigenzufuhr in lang dauernden Durchströmungsversuchen auf die von Blut und Serum ausgewaschene Leber eines sensibilisierten Tieres. Der Gehalt an Harnstoff wurde mit der Urease-

1) Weil, Journ. of med. Research, Vol. 32, 1915, p. 107.

2) Massini, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Ther., Bd. 25, 1916, p. 179.

3) Cesaris-Demel, Arch. per le Scienze med., Vol. 36, 1912, p. 323; R. Accad. Med. Torino, Sitzung vom 18. II. 1910.

4) Launoy, Soc. biol. Compt. rend., T. 72, 64^e année, 1912, p. 403, séance de 9 mars; ebenda, p. 815, séance de 25 mai.

Ferment-Methode bestimmt, die relativ einfach ist und deren Werte quantitativ richtige Resultate zulassen. Wir benützten die Lebern von mit Menschenserum vorbehandelten Meerschweinchen. Dieses Tier wählten wir, da es am leichtesten und sichersten zu sensibilisieren ist. 2–3 Tage vor dem Versuche erhielten die Meerschweinchen keine Nahrung mehr, da in Hungerlebern bei der Durchblutung nur spärliche Mengen von Harnstoff abgeschieden werden [Loeffler¹⁾]. Die Methode der Durchblutung ist die von Loeffler¹⁾, die er bei Hunden und Kaninchen zum Nachweis der Harnstoffbildung aus Ammoniaksalzen und Aminosäuren benützte.

Unsere Versuchsanordnung war folgende: Wir töteten das Tier durch Verbluten aus den Carotiden. Nach Eröffnung des Abdomens entnahmen wir ein Stück Darm, um seine anaphylaktische Reaktionsfähigkeit auf homologen Antigenzusatz zu prüfen (s. oben Darmversuche von Massini). Die Vena cava inferior unterhalb des Zwerchfelles und Arteria hepatica werden in situ unterbunden und in die Vena portae und cava, unmittelbar vor ihrem Eintritt ins Herz, Kanülen eingebracht, die mit 1-proz. Natrium citricum-Lösung gefüllt sind, um Blutkoagula zu vermeiden. Darauf wird das Organ aus dem Tiere geschnitten und in eine feuchte Kammer gelegt, die auf einer konstanten Temperatur von 38° gehalten wird. Als Reservoir der Durchströmungsflüssigkeit dient eine in einem Thermostaten (Temperatur 38.39°) stehende Woulffsche Flasche. Durch ihren unteren Tubus wird ein kräftiger Sauerstoffstrom eingeleitet, um das Blut zu arterialisieren. Die Zuleitung von Sauerstoff war stets so stark, daß mindestens die Hälfte des Gefäßes mit Schaum gefüllt war. Die Flüssigkeit wird durch eine kleine Präzisionspumpe der Vena portae zugeführt, und der Druck wird durch Einschalten eines kleinen Windkessels kontinuierlich gemacht. Die Pumpe erlaubt eine außerordentlich feine Regulierung des Hubes, der bei großer Tourenzahl sehr klein gewählt werden kann, damit die Leber so wenig wie möglich Stauung zeigt. Der Abfluß der Leber ergießt sich direkt in die Woulffsche Flasche. Das zuströmende Blut wird durch den Schaum über die ganze Oberfläche der Flüssigkeit in dünner Schicht verteilt, so daß eine gute Arterialisierung garantiert wird.

Die Durchströmung zerfiel in zwei Perioden: in der ersten halben Stunde wiesen wir nach, daß die isolierte Leber imstande war, Harnstoff aus Ammoniaksalzen zu bilden; in der zweiten halben Stunde studierten wir die Wirkung des Antigens auf die Fähigkeit der Harnstoffsynthese. Wir setzten die Durchströmung in Gang. Zuerst durchspülten wir die Leber mit Ringerlösung, bis die Flüssigkeit klar floß. Die Leber wurde durch die Waschung blaß-bräunlichweiß. Das Spülwasser fingen wir ge-

1) Loeffler, Biochem. Zeitschr., Bd. 85, 1918, Heft 3 u. 4, p. 230.

trennt auf, es kam nicht mehr zur Verwendung. Wir setzten darauf das defibrinierte, mit Ringerlösung filtrierte Blut eines normalen Meerschweinchens zu und maßen die Abstromgeschwindigkeit aus der künstlich durchbluteten Leber. Wir entfernten erst nach 15 Minuten die erste Kontrollprobe zur Bestimmung des Harnstoffgehaltes. Wir warteten so lange, um eine gleichmäßige Mischung der Flüssigkeit im Apparate zu erzielen. Alle Proben und Zusätze entnahmen oder fügten wir dem Arterialisator zu. Bei Beginn der ersten Periode gaben wir 2,8 g Ammonium lacticum als Ammoniakquelle und 1,7 g Natrium bicarbonicum zu. Dieses wurde zugefügt, um die bei der Harnstoffbildung aus dem Ammoniaksalze entstehende Säure zu neutralisieren. Wir hielten die Durchblutung eine halbe Stunde im Gang, darauf entnahmen wir die zweite Kontrollprobe, fügten 20 ccm Menschen-Ascites zu, durchströmten eine zweite halbe Stunde, pipettierten die dritte Probe und bestimmten wieder die Abflußgeschwindigkeit. Zuletzt zogen wir die im Apparat zurückgebliebene Flüssigkeitsmenge in Rechnung und wogen das in der Leber retinierte Blut. Die Verdunstung wurde in besonderen Kontrollversuchen bestimmt und die Werte in die Bilanz eingesetzt. Im Mittel betrug sie 10 ccm in der halben Stunde. Der Zusatz von Antigen störte die Durchblutungsgeschwindigkeit nicht, wie wir aus mehrfachen Messungen unmittelbar vor und nach dem Serumzusatz konstatierten. Weder das Aussehen der Leber noch der blutigen Flüssigkeit zeigt irgendwelche Veränderung. Das war aus den Angaben von Mauntner und Pick¹⁾ in den oben erwähnten Versuchen über die durch Shockgifte erzeugten Zirkulationsstörungen vorauszusehen: die Gefäße der Herbivorenleber verhalten sich dem anaphylaktischen Shock gegenüber völlig indifferent.

Zur Bestimmung des Harnstoffgehaltes der Proben wählten wir die Urease-Methode [Kiesel²⁾]. Die genaue Technik ist bei Loeffler³⁾ beschrieben. Der Harnstoff der Blutproben wird durch das Ferment in Ammoniumkarbonat übergeführt. Das Ammoniak wird mit Kaliumkarbonatlösung durch einen Luftstrom in $\frac{1}{10}$ n Säure getrieben und mit $\frac{1}{100}$ n Natronlauge titriert. Zur Bestimmung des präformierten Ammoniakgehaltes wird eine zweite Probe in gleicher Weise behandelt, nur fällt der Zusatz von Urease weg. Die Proben mit Ureasezusatz geben das präformierte und das aus Harnstoff durch Urease gebildete Ammoniak, die Proben ohne Urease geben den Gehalt der Flüssigkeit an präformiertem oder zugesetztem unveränderten Ammoniak. Der Harnstoffgehalt der Flüssigkeit wird angegeben durch den Ammoniakwert der mit Urease behandelten Probe, vermindert um den Ammoniakwert der ohne Zusatz des Ferments behandelten Flüssigkeit. Zur Verarbeitung gelangten je 10 ccm der einzelnen Proben. 0,1 ccm Differenz der beiden Ammoniakwerte entsprechen 0,3 mg Harnstoff pro 100 ccm Flüssigkeit. Alle Bestimmungen

1) Mauntner und Pick, Münch. med. Wochenschr., Jahrg. 62, 1915, No. 34, p. 1141.

2) Kiesel, Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 75, p. 169.

3) Loeffler, Biochem. Zeitschr., Bd. 85, 1918, Heft 3 u. 4, p. 230.

wurden doppelt ausgeführt und nur bei sehr guter Uebereinstimmung der Werte berücksichtigt.

I. Versuche an ausgewaschenen Lebern sensibilisierter Meerschweinchen.

Versuch vom 17. Mai 1918.

Meerschweinchen von 503 g Gewicht, am 15. V. 1918 auf Hunger gesetzt. Zweimal intraperitoneal mit Menschenserum sensibilisiert: 2 ccm am 6. III. 1918, 1 ccm am 31. IV. 1918. Leber von 22 g. Darm reagiert anaphylaktisch und wird antianaphylaktisch.

Flüssigkeitsbilanz.

Zeit	Flüssigkeit	Kubik- zenti- meter Flüssig- keit	Milli- gramm Harnstoff	Neu- bildung Milli- gramm Harnstoff
4 ²⁰	Ringerlösung im Apparat Leber ausgewaschen, getrennt auf- fangen	1100	—	—
		700	—	—
		400	—	—
4 ³⁰	Zusatz von mit Ringerlösung verdünntem Blut eines normalen Meerschw. (Abstrom: 110 ccm pro Minute)	50	—	—
		450	21,6	—
4 ⁴⁵	Entnahme der Probe I : 4,8 mg Harnstoff pro 100 ccm	90	4,3	—
	Zusatz von Ammonium lacticum 2,8 g. Natrium bic. 1,7 g	360	17,3	—
		70	0	—
		430	17,3	—
	Verlust durch Verdunsten in Kontroll- versuchen bestimmt	10	0	—
		420	17,3	—
			44,1	} 26,8
	Entnahme der Probe II : 10,5 mg Harnstoff pro 100 ccm	100	10,5	
		320	33,6	—
		20	7,8	—
5 ¹⁵	Zusatz von Menschenascites : 39,0 mg Harnstoff pro 100 ccm	340	41,4	—
		10	0	—
		330	41,4	} — 0,8
	Verlust durch Verdunsten		40,6	
5 ⁴⁵	Entnahme der Probe III : 12,3 mg Harnstoff pro 100 ccm	100	—	—
		230	—	—
		230	—	—
	(Abstrom: 110 ccm pro Minute) Restflüssigkeit im Apparat und Leber	0	—	—

Versuch vom 16. Mai 1918.

Meerschweinchen von 497 g Gewicht. Auf Hunger gesetzt am 14. V. 1918. Zweimal intraperitoneal sensibilisiert mit Menschenserum: 2 ccm am 6. III. 1918; 1 ccm am 4. V. 1918. Darm reagiert anaphylaktisch und wird antianaphylaktisch. Leber von 17 g ausgewaschen mit Ringerlösung: 340 ccm. Durchströmung mit 440 ccm mit Ringerlösung verdünntem Blut eines normalen Meerschweinchens. Abstrom: 75 ccm pro Minute. Zusatz von 2,8 g Ammonium lacticum und 1,7 g Natrium bicarbonicum. Bei Beginn der zweiten Periode Zusatz von 20 ccm Menschenascites.

Probe I	5,4 mg Harnstoff in 100 ccm Flüssigkeit
„ II	12,9 „ „ „ „ „
„ III	15,0 „ „ „ „ „
Ascites	39,0 „ „ „ „ „

I. Periode: Beginn in 425 ccm Flüssigkeit	19,0 mg Harnstoff
Schluß „ 425 „ „	51,8 „ „
Neubildung	35,8 mg Harnstoff

II. Periode: Beginn in 325 ccm Flüssigkeit	43,2 mg Harnstoff
Zusatz von 20 „ Ascites	7,8 „ „
in 345 ccm Flüssigkeit	51,0 mg Harnstoff
Schluß in 345 „ „	51,7 „ „
Neubildung	0,7 mg Harnstoff

Versuch vom 23. Mai 1918.

Meerschweinchen von 613 g Gewicht. Auf Hunger gesetzt 21. V. 1918. Zweimal intraperitoneal sensibilisiert mit Menschenserum: 2 ccm am 6. III. 1918; 1 ccm am 30. IV. 1918. Darm reagiert anaphylaktisch und wird antianaphylaktisch. Leber von 27 g. Ausgewaschen mit 650 ccm Ringerlösung. Durchströmung mit 500 ccm mit Ringerlösung verdünntem Blut eines normalen Meerschweinchens. Abstrom 105 ccm pro Minute. Zusatz von 2,8 g Ammonium lacticum und 1,7 g Natrium bicarbonicum. Bei Beginn der zweiten Periode Zusatz von 20 ccm Menschenascites.

Probe I	4,5 mg Harnstoff in 100 ccm Flüssigkeit
„ II	11,1 „ „ „ „ „
„ III	13,8 „ „ „ „ „
Ascites	39,0 „ „ „ „ „

I. Periode: Beginn in 460 ccm Flüssigkeit	18,0 mg Harnstoff
Schluß „ 460 „ „	51,1 „ „
Neubildung	33,1 mg Harnstoff

II. Periode: Beginn in 350 ccm Flüssigkeit	40,0 mg Harnstoff
Zusatz von 20 „ Ascites	7,8 „ „
in 370 ccm Flüssigkeit	47,8 mg Harnstoff
Schluß „ 370 „ „	51,0 „ „
Neubildung	3,2 mg Harnstoff

Versuch vom 20. Juni 1918.

Meerschweinchen von 445 g Gewicht. Auf Hunger gesetzt am 18. VI. 1918. Zweimal intraperitoneal sensibilisiert mit Menschenserum: 2 ccm am 30. V. 1918, 2 ccm am 2. VI. 1918. Darm reagiert anaphylaktisch und wird antianaphylaktisch. Leber von 21 g, ausgewaschen mit 1250 ccm Ringerlösung. Durchströmung mit 535 ccm mit Ringerlösung verdünntem Blut eines normalen Meerschweinchens. Abstrom 160 ccm in der Minute. Zusatz von 2,8 mg Ammonium lacticum und 1,7 g Natrium bicarbonicum. Bei Beginn der zweiten Periode Zusatz von 20 ccm Menschenascites.

Probe I	3,6 mg	Harnstoff in 100 cem	Flüssigkeit	
„ II	12,9 „	„	„	„
„ III	15,0 „	„	„	„
Ascites	36,0 „	„	„	„
I. Periode: Beginn in	485 cem	Flüssigkeit	15,6 mg	Harnstoff
Schluß „	485 „	„	62,6 „	„
		Neubildung	47,0 mg	Harnstoff
II. Periode: Beginn in	375 cem	Flüssigkeit	49,7 mg	Harnstoff
Zusatz von	20 „	Ascites	7,2 „	„
	in 395 cem	Flüssigkeit	56,9 mg	Harnstoff
Schluß „	395 „	„	59,2 „	„
		Neubildung	2,3 mg	Harnstoff

Resultat der Versuche an ausgewaschenen
Lebern sensibilisierter Meerschweinchen, die
mit dem Blute normaler Tiere durchströmt
wurden:

In der ersten Periode bildet sich in der Leber sensibilisierter Meerschweinchen aus Ammoniumlaktat Harnstoff. Die Menge ist der Größe und dem Gewicht der Tiere entsprechend, wie sie auch Loeffler¹⁾ in seinen Durchblutungen von Kaninchen- und Hundelebern fand. In der zweiten Periode hemmt der Zusatz von homologem Antigen die Harnstoffsynthese von Lebern sensibilisierter Meerschweinchen („Lebershock“). Zur Erzeugung des anaphylaktischen Shocks ist nicht das ganze Tier notwendig, das einzelne Organ mit seinen Zellen ist an der Reaktion beteiligt. Das Blut scheint bei dem Shock keine Rolle zu spielen, da die Leber von Blut und Serum möglichst ausgewaschen und mit dem Blute eines normalen Meerschweinchens durchströmt wurde.

1) Loeffler, s. oben; Biochem. Zeitschr., Bd. 85, 1918, Heft 3 u. 4, p. 230.

Die geringe Harnstoffbildung in der zweiten Periode einzelner Versuche wird durch das Intervall erklärt zwischen Entnahme der Kontrollprobe und der Einwirkung des Serums, das genau pipettiert wird und den Weg vom Arterialisator über die Pumpe und den Windkessel in die Leber zurücklegt. Während dieser Zeit arbeitet die Leber. Die negativen Werte liegen innerhalb der Fehlergrenze.

II. Versuche an nicht ausgewaschenen Lebern sensibilisierter Meerschweinchen.

Versuch vom 10. Mai 1918.

Meerschweinchen von 440 g Gewicht auf Hunger gesetzt am 8. V. 1918. Einmal intraperitoneal sensibilisiert mit Menschenserum: 2 ccm am 6. III. 1918. Darm reagiert anaphylaktisch und wird antianaphylaktisch. Leber von 23 g. Durchströmung mit 555 ccm mit Ringerlösung verdünntem Blut des getöteten Meerschweinchens. Abstrom 60 ccm pro Minute. Zusatz von 2,8 g Ammonium lacticum und 1,7 g Natrium bicarbonicum. Bei Beginn der zweiten Periode Zusatz von 18 ccm Menschenascites.

Probe I	5,1 mg Harnstoff in 100 ccm Flüssigkeit	
„ II	9,0 „ „ „ „ „	
„ III	9,9 „ „ „ „ „	
Ascites	39,0 „ „ „ „ „	
I. Periode: Beginn in 515 ccm Flüssigkeit	23,3 mg Harnstoff	
Schluß „ 515 „	46,3 „ „	
	Neubildung	23,0 mg Harnstoff
II. Periode: Beginn in 412 ccm Flüssigkeit	37,3 mg Harnstoff	
Zusatz von 18 „ Ascites	7,0 „ „	
in 430 mg Flüssigkeit	44,3 mg Harnstoff	
Schluß „ 430 „	42,6 „ „	
	Neubildung	— 1,7 mg Harnstoff

Versuch vom 13. Mai 1918.

Meerschweinchen von 455 g Gewicht. Auf Hunger gesetzt am 11. V. 1918. Zweimal intraperitoneal sensibilisiert mit Menschenserum: 2 ccm am 6. III. 1918; 1 ccm am 30. IV. 1918. Darm reagiert anaphylaktisch und wird antianaphylaktisch. Durchströmung mit 540 ccm mit Ringerlösung verdünntem Blut des Versuchstieres. Abstrom 75 ccm in der Minute. Zusatz von 2,8 g Ammonium lacticum und 1,7 g Natrium bicarbonicum. Bei Beginn der zweiten Periode Zusatz von 20 ccm Menschenascites.

Probe I	6,3 mg Hbrnstoff in 100 ccm Flüssigkeit	
„ II	13,5 „ „ „ „ „	
„ III	15,6 „ „ „ „ „	
Ascites	39,0 „ „ „ „ „	
I. Periode: Beginn in 500 ccm Flüssigkeit	27,7 mg Harnstoff	
Schluß „ 500 „	67,5 „ „	
	Neubildung	39,8 mg Harnstoff

II. Periode: Beginn in 390 cem Flüssigkeit	54,0 mg Harnstoff
Zusatz von 20 „ Ascites	7,8 „ „
in 410 cem Flüssigkeit	61,8 mg Harnstoff
Schluß „ 410 „	63,9 „ „
Neubildung	2,1 mg Harnstoff

Resultat der Versuche an nicht ausgewaschenen Lebern sensibilisierter Meerschweinchen, die mit eigenem Blute durchströmt wurden:

Die Ergebnisse entsprechen den Resultaten der Versuche an ausgewaschenen Lebern sensibilisierter Meerschweinchen, die mit dem Blute normaler Meerschweinchen durchströmt wurden. In der ersten Periode bildet sich der Größe des Tieres entsprechend Harnstoff. In der zweiten Periode tritt eine Hemmung der Harnstoffsynthese durch Zusatz von Menschenascites zur mit Menschenserum sensibilisierten Leber ein.

III. Kontrollversuche an Lebern normaler Meerschweinchen.

Versuch vom 14. Juni 1918.

Meerschweinchen von 364 g Gewicht. Auf Hunger gesetzt am 12. VI. 1918. Leber von 15 g. Ausgewaschen mit 700 cem Ringerlösung. Durchströmung mit 450 cem mit Ringerlösung verdünntem Blut des Versuchstieres. Abstrom 120 cem in der Minute. Zusatz von 2,8 g Ammonium lacticum und 1,7 g Natrium bicarbonicum. Bei Beginn der zweiten Periode Zusatz von 20 cem Menschenascites.

Probe I	30 mg Harnstoff in 100 cem Flüssigkeit
„ II	8,1 „ „ „ „ „ „
„ III	18,3 „ „ „ „ „ „
Ascites	36,0 „ „ „ „ „ „
I. Periode: Beginn in 430 cem Flüssigkeit	10,5 mg Harnstoff
Schluß „ 430 „	34,8 „ „
Neubildung	24,3 mg Harnstoff
II. Periode: Beginn in 320 cem Flüssigkeit	26,7 mg Harnstoff
Zusatz von 20 „ Ascites	7,2 „ „
in 340 cem Flüssigkeit	33,9 mg Harnstoff
Schluß „ 340 „	62,2 „ „
Neubildung	28,3 mg Harnstoff

Versuch vom 15. März 1918.

Meerschweinchen von 370 g Gewicht. Auf Hunger gesetzt am 13. III. 1918. Leber von 18 g. Durchströmung mit 560 cem mit Ringerlösung verdünntem Blut des Versuchstieres. Abstrom 95–100 cem in der Minute. Zusatz von 2,8 g Ammonium lacticum und 1,7 g Natrium bicarbonicum

sowie von 50 mg Harnstoff. Bei Beginn der zweiten Periode Zusatz von 30 ccm Menschenascites.

Probe I	15,6 mg Harnstoff in 100 ccm Flüssigkeit	
„ II	18,0 „ „ „ „ „ „	
„ III	21,6 „ „ „ „ „ „	
Ascites	21,3 „ „ „ „ „ „	
I. Periode: Beginn in 500 ccm Flüssigkeit	79,4 mg Harnstoff	
Schluß „ 500 „ „	90,0 „ „	
Neubildung	10,6 mg Harnstoff	
II. Periode: Beginn in 445 ccm Flüssigkeit	81,9 mg Harnstoff	
Zusatz von 30 „ Ascites	6,4 „ „	
in 475 ccm Flüssigkeit	88,3 mg Harnstoff	
Schluß „ 475 „ „	102,6 „ „	
Neubildung	14,3 mg Harnstoff	

Versuch vom 6. Mai 1918.

Meerschweinchen von 493 g Gewicht. Auf Hunger gesetzt am 4. V. 1918. Leber von 11 g. Durchströmung mit 600 ccm mit Ringerlösung verdünntem Blut des Versuchstieres. Abstrom 60 ccm in der Minute. Zusatz von 2,8 g Ammonium lacticum und 1,7 g Natrium bicarbonicum. Bei Beginn der zweiten Periode Zusatz von 20 ccm Menschenascites.

Probe I	8,4 mg Harnstoff in 100 ccm Flüssigkeit	
„ II	9,0 „ „ „ „ „ „	
„ III	11,7 „ „ „ „ „ „	
Ascites	39,0 „ „ „ „ „ „	
I. Periode: Beginn in 605 ccm Flüssigkeit	45,3 mg Harnstoff	
Schluß „ 605 „ „	54,4 „ „	
Neubildung	9,1 mg Harnstoff	
II. Periode: Beginn in 525 ccm Flüssigkeit	48,1 mg Harnstoff	
Zusatz von 20 „ Ascites	7,8 „ „	
in 545 ccm Flüssigkeit	55,9 mg Harnstoff	
Schluß „ 545 „ „	63,8 „ „	
Neubildung	7,9 mg Harnstoff	

Resultate der Kontrollversuche an Lebern normaler Meerschweinchen:

Die Meerschweinchenleber bildet aus Ammoniumlaktat Harnstoff. Die Menge ist dem Gewicht und der Größe des Tieres entsprechend, wie sie auch Loeffler¹⁾ in seinen Durchblutungen von Kaninchen- und Hundelebern fand. In der zweiten Periode wird so viel Harnstoff gebildet wie in der ersten. Der Serumzusatz zu Lebern normaler Meerschweinchen

1) Loeffler, s. oben; Biochem. Zeitschr., Bd. 85, 1918, Heft 3 u. 4, p. 230.

übt keinen Einfluß aus auf die harnstoffbildende Fähigkeit der Leber. Die Leistungsfähigkeit erfährt durch die Durchströmung keine Schädigung.

IV. Versuche an Lebern sensibilisierter Meerschweinchen mit tropfenweisem Antigenzusatz.

Versuch vom 30. Mai 1918.

Meerschweinchen von 443 g Gewicht. Auf Hunger gesetzt am 28. V. 1918. Zweimal intraperitoneal sensibilisiert mit Menschenserum: 2 ccm am 6. III. 1918; 1 ccm am 30. IV. 1918. Darm reagiert anaphylaktisch und wird antianaphylaktisch. Leber von 20 g, ausgewaschen mit 700 ccm Ringerlösung. Durchströmung mit 450 ccm mit Ringerlösung verdünntem Blut eines normalen Meerschweinchens. Abstrom 100 ccm in der Minute. Zusatz von 2,8 mg Ammonium lacticum und 1,7 g Natrium bicarbonicum. Am Schlusse der ersten Periode wird tropfenweise 20 ccm Menschenascites innerhalb 15 Minuten zugesetzt. Entnahme der Kontrollprobe II darauf nach 10 Minuten, um eine gute Mischung der Flüssigkeit zu erzielen. Die erste Periode dauerte 55 Minuten, die zweite Periode = 30 Minuten.

Probe I	3,6 mg Harnstoff in 100 ccm Flüssigkeit
„ II	10,2 „ „ „ „ „ „
„ III	15,0 „ „ „ „ „ „
Ascites	36,0 „ „ „ „ „ „
I. Periode: Beginn in 415 ccm Flüssigkeit	12,6 mg Harnstoff
(55 Minuten) Zusatz von 20 „ Ascites	7,2 „ „
in 435 ccm Flüssigkeit	19,8 mg Harnstoff
Schluß „ 435 „ „	44,4 „ „
Neubildung	24,6 mg Harnstoff
II. Periode: Beginn in 325 ccm Flüssigkeit	34,2 mg Harnstoff
(30 Minuten) Schluß „ 325 „ „	48,8 „ „
Neubildung	14,6 mg Harnstoff

Versuch vom 18. Juni 1918.

Meerschweinchen von 520 g Gewicht. Auf Hunger gesetzt am 16. VI. 1918. Zweimal intraperitoneal sensibilisiert mit Menschenserum: 2 ccm am 30. V. 1918; 2 ccm am 6. VI. 1918. Darm reagiert anaphylaktisch und wird antianaphylaktisch. Leber von 15 g. Ausgewaschen mit 750 ccm Ringerlösung. Durchströmung mit 350 ccm mit Ringerlösung verdünntem Blut eines normalen Meerschweinchens. Abstrom 150–170 ccm in der Minute. Zusatz von 2,8 mg Ammonium lacticum und 1,7 g Natrium bicarbonicum. Am Schluß der ersten Periode werden tropfenweise 22 ccm Menschenascites innerhalb 20 Minuten zugesetzt. Entnahme der Kontrollprobe II nach 10 Minuten, um eine gute Mischung der Flüssigkeit zu erhalten. Die erste Periode dauerte 50 Minuten, die zweite Periode 30 Minuten.

Probe I	2,7 mg Harnstoff in 100 ccm Flüssigkeit						
„ II	12,9 „ „ „ „ „ „ „						
„ III	16,5 „ „ „ „ „ „ „						
Ascites	36,0 „ „ „ „ „ „ „						
I. Periode: Beginn in 298 ccm Flüssigkeit	6,8 mg Harnstoff						
(50 Minuten) Zusatz von 22 „ Ascites	7,9 „ „						
in 320 ccm Flüssigkeit	14,7 mg Harnstoff						
Schluß „ 320 „	41,3 „ „						
Neubildung	26,6 mg Harnstoff						
II. Periode: Beginn in 210 ccm Flüssigkeit	28,4 mg Harnstoff						
(30 Minuten) Schluß „ 210 „	34,7 „ „						
Neubildung	6,3 mg Harnstoff						

Resultate der Versuche an Lebern sensibilisierter Meerschweinchen mit tropfenweisem Antigenzusatz, die ausgewaschen und mit dem Blute normaler Meerschweinchen durchströmt wurden:

Tropfenweises Zusetzen des Antigens in Dosen, die bei raschem Zufügen die Harnstoffbildung hemmen, läßt den Lebershock nicht zustande kommen: es wird Antianaphylaxie erzeugt. In der zweiten Periode wird der Größe des Tieres entsprechend Harnstoff gebildet. (Die geringere Harnstoffbildung im Versuche vom 18. VI. 1918 erklärt sich dadurch, daß die Leber nicht vollständig antianaphylaktisch war.) Da die Antianaphylaxie an ausgewaschenen, mit dem Blute normaler Meerschweinchen durchströmten Lebern statthat, so ist der Schluß nicht zu umgehen, daß der Shock eine zelluläre Reaktion darstellt ohne Beteiligung des eigenen Blutes.

Analog dem Lebershock kann Antianaphylaxie nicht nur am ganzen Tiere erzeugt werden, sondern jedes einzelne Organ ist an der Reaktion beteiligt.

Die Resultate an der Leber entsprechen denen von Ban¹⁾, der mit dem isolierten, in Ringerlösung suspendierten Darms Antianaphylaxie erzielte. Er verhindert durch sehr langsames Zufließenlassen des Serums in Dosen, die zur Auslösung einer Reaktion genügen, die Kontraktionen.

Gestützt auf Tierexperimente, empfahlen manche Autoren die Methode der langsamen Injektion des Serums in der Therapie. Friedberger und Mita²⁾ konstatierten, daß bei gegen Serum überempfindlichen Meerschwein-

1) Ban, Inaug.-Dissertation der Med. Universitätsklinik Basel, 1918.

2) Friedberger und Mita, Deutsche med. Wochenschr., Bd. 38, 1912, p. 204.

chen bei langsamer Injektion des betreffenden Serums in die Blutbahn Dosen vertragen werden, die die sonst tödliche ganz bedeutend übersteigen. Besredka und Steinhardt¹⁾ erzeugten Unempfindlichkeit, wenn sie vor der zweiten Injektion eine kleine Serummenge subkutan oder intracerebral gaben, oder die Gesamtmenge von Heilserum nicht auf einmal, sondern fraktioniert einspritzten (*méthode des doses subintrantes*). Weil²⁾ findet, daß die mit Antigen vorbehandelten Meerschweinchen gegen intraperitoneale Reinjektion refraktär sind, daß sie aber durch intravenöse auch kleinere Dosen akut getötet werden. Er hält den freien Antikörper in der Blutbahn für genügend, um das allmählich von der Bauchhöhle resorbierte Antigen abzusättigen, aber unzureichend, um dasselbe bei intravenöser Injektion von den Körperzellen abzuhalten.

Schlußbetrachtungen.

Die Methode, die Loeffler zum Nachweis der Harnstoffbildung aus Ammoniaksalzen bei der isolierten, überlebenden Hunde- und Kaninchenleber anwandte, läßt sich zur Durchblutung von Meerschweinchenlebern benutzen. Wir untersuchten die Harnstoffsynthese aus Ammoniumlaktat in langdauernden Durchströmungsversuchen in verschiedenen Modifikationen:

- 1) an ausgewaschenen Lebern sensiblierter Meerschweinchen, die mit Blut normaler Tiere durchströmt wurden, mit und ohne Serumzusatz;
- 2) an nicht ausgewaschenen Lebern sensibilisierter Meerschweinchen, die mit ihrem eigenen Blute durchströmt wurden, mit und ohne Serumzusatz;
- 3) an Lebern normaler Meerschweinchen mit und ohne Serumsatz;
- 4) an Lebern von Meerschweinchen, die ausgewaschen und mit dem Blute normaler Meerschweinchen durchströmt wurden, mit und ohne homologen Antigensatz, der langsam tropfenweise erfolgte.

Wir fanden bei der normalen sowie bei der sensibilisierten Leber regelmäßig der Größe des Tieres entsprechende Mengen von Harnstoffbildung in Versuchen, die bis 1½ Stunden dauerten. Die normale Leber wird durch Serumzufuhr in ihrer

1) Besredka et Steinhardt, *Annales de l'Institut Pasteur*, T. 21, 1907, p. 117 et 384.

2) Weil, s. oben l. c.

synthetischen Fähigkeit der Harnstoffbildung nicht gehemmt, die Ausschläge sind vor und nach dem Eiweißzusatz gleich groß. Andere Ergebnisse erzielten wir dagegen bei den Lebern sensibilisierter Tiere: vor der Zufuhr des homologen Antigens bildet die Leber der Größe des Tieres entsprechend Harnstoff, nach dem Zusatz verliert aber die Leber die Fähigkeit der Harnstoffsynthese. Die Kontrollproben zeigen keinen vermehrten Gehalt an Harnstoff. Wir nennen dieses Phänomen „Lebershock“, da er den Parallelismus zur Darstellung bringt zwischen dem Symptomenkomplex, den wir beim lebenden Tiere anaphylaktischen Shock nennen, und der Störung dieser lebenswichtigen Funktion. Die Hemmung beweist uns, daß sich die Leber aktiv sensibilisieren läßt, ähnlich wie Lunge, Darm, Uterus etc. Das einzelne Organ erleidet durch die Präparierung mit Eiweiß eine solche Veränderung, daß es bei homologem Serumzusatz anaphylaktisch reagiert. Das Fehlen der Harnstoffbildung im Lebershock zeigt uns die wichtige Rolle, die die Leber beim Zustandekommen des anaphylaktischen Symptomenkomplexes des lebenden Tieres spielt. Diese Hemmung fassen wir als ein Symptom des Shocks der Zellen auf, da eine der wichtigsten Funktionen des Lebergewebes ausfällt.

Friedberger¹⁾ sieht keinen strikten Beweis in den Versuchen von Dale, der die Anaphylaxie lediglich oder vorzüglich für einen sich in den Zellen abspielenden Vorgang hält: „Dagegen spricht einmal die Tatsache, daß wir überhaupt nur eine sehr geringfügige Störung am präparierten Darm und Uterus erzielen können. Wir haben einen momentanen Stillstand der Bewegungen, dann aber schreibt das Organ wieder vollkommen und noch stundenlang nach dieser leichten Intoxikation in normalen Kurven. Weder Dale noch mir ist es gelungen, ein Organ auch mit großen Serummengen zum vollen Sistieren der Bewegungen zu bringen.“ Unsere Experimente widerlegen die Kritik von Friedberger. Die Hemmung der Harnstoffsynthese bei homologer Antigenzufuhr ist keine kurzdauernde, sich wiederherstellende Störung vorüber-

1) Friedberger und Kumagai, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Ther., Bd. 22, 1914, p. 269.

gehender Natur (s. Versuche Reihe I und II), wie in den Versuchen von Dale am Uterus, Massini am Darm etc., sondern ein völliges Sistieren der Funktion. Das Fehlen der Harnstoffbildung ist nicht unwesentlich. Ein in den Lebenshaushalt des Tieres eingreifender Stoffwechselprozeß wird ausgeschaltet. Wir konnten in unserer Periode, die eine halbe Stunde dauerte, keine Wiederaufnahme der Tätigkeit beobachten. Es handelt sich auch nicht um eine sehr empfindliche Funktion, da erhebliche Säuremengen keine Schädigung der Harnstoffsynthese bewirken können [Loeffler¹⁾]. Zum Schlusse sei bemerkt, daß wir alle Experimente veröffentlichten, die wir anstellten.

Unsere Versuche stellen ferner einen Beweis für den zellulären Sitz der Reaktion dar. Die Leber wurde ausgewaschen und mit dem Blute normaler Meerschweinchen durchspült (s. Versuche der Reihe I). Diese Waschung erfolgte mit einem Vielfachen (bis 1250 ccm Ringerlösung) der Blutmenge, die das Tier besitzt. Die Flüssigkeit strömte schon nach 100 bis 150 ccm klar aus der Leber. Allerdings erhebt Friedberger gegen die für die zelluläre Theorie so wichtigen Versuche von Dale einen technischen Einwand, nämlich den, daß es praktisch unmöglich ist, Organe von ihren Serumresten zu befreien. Diese Kritik hat keine große Berechtigung. Da die retinierte Blutmenge äußerst klein ist, muß die Giftmenge, die sich aus diesen durch die Ausspülung nicht erfaßten Blut- und Serummengen bildet, sicherlich sehr gering sein. Wenn sie höchstens noch die kurzdauernden Störungen des ausgewaschenen Uterus und Darmes zu erklären vermag, so kann sie schwerlich die andauernde Hemmung der Leber bewirken. Die Harnstoffbildung ist keine sehr empfindliche (s. oben), aber lebenswichtige Funktion, die sich während unserer Periode der halbstündigen Durchströmung nicht wieder einstellt. Die mit ihrem eigenen Blute durchflossene Leber (s. Versuche der Reihe II) und die ausgewaschene, mit dem Blute normaler Meerschweinchen durchströmte Leber (s. Versuch der Reihe I) weisen eine Hemmung der Harnstoffbildung auf. Der Ausschlag ist bei beiden gleich groß, in der letzteren

1) Loeffler, s. oben l. c.; Biochem. Zeitschr., Bd. 85, 1918, Heft 3 u. 4, p. 230.

Versuchsanordnung auf keine Fälle kleiner. Es kann daher das Blut des sensibilisierten Tieres keine wesentliche Beteiligung am Zustandekommen des anaphylaktischen Shocks beanspruchen, die zellulären Vorgänge müssen die Hauptrolle spielen. Wenn die Anaphylaxie durch ein Blutgift bedingt wäre, erwarten wir im Gegenteil, daß die noch Spuren von eigenem Blute enthaltende Leber ohne Shock in den Zustand der Antianaphylaxie übergeht, d. h. Harnstoff weiterbildet. Beim lebenden sensibilisierten Tiere und auch bei der isolierten Leber verhindern (s. Versuch der Reihe IV vom 30. V. 1918) oder vermindern (s. Versuch Reihe IV vom 18. VI. 1918) kleine, langsam einwirkende Dosen von homologem Antigen den Shock. Die ausgewaschene Leber enthält nur wenig Antikörper in ihren kleinen retinierten Blutmengen, die sich an der Noxenbildung beteiligen. Die geringe Giftmenge sollte auch hier in analoger Weise den Shock nicht zustande kommen lassen und Antianaphylaxie erzeugen. Das ist aber nicht der Fall. Der Lebershock ist in voller Deutlichkeit ausgeprägt.

Parallel wie am lebenden sensibilisierten Tier kann die Leber ohne Lebershock antianaphylaktisch gemacht werden (s. Versuche der Reihe IV). Durch langsames Zutropfen des homologen Antigens in Dosen, die bei raschem Zusatz den Lebershock hervorrufen, können wir die harnstoffbildende Fähigkeit der Leber erhalten. Auch in diesem Falle darf dem Blute keine essentielle Rolle zugesprochen werden: die Antianaphylaxie kommt an der ausgewaschenen Leber zustande, die mit dem Blute eines normalen Tieres durchströmt wird.

Zusammenfassung.

I. Die überlebende isolierte Leber des Meerschweinchens hat in Durchblutungsversuchen die Fähigkeit, aus zugesetztem Ammoniumlaktat Harnstoff zu bilden. Die Menge entspricht der bei Lebern von Hunden und Kaninchen gefundenen.

II. Die isolierte überlebende Leber von mit Menschenserum sensibilisierten Meerschweinchen reagiert bei homologem Antigenzusatz mit einer Hemmung der Harnstoffsynthese („Lebershock“):

a) bei nicht ausgewaschenen, mit eigenem Blute durchströmten Lebern;

b) bei ausgewaschenen, mit dem Blute eines normalen Meerschweinchens durchströmten Lebern.

Die Störung ist nicht nur momentan, sondern andauernd. Lebern normaler Meerschweinchen bilden Harnstoff bei Serumzusatz.

III. Der tropfenweise homologe Antigenzusatz in Dosen, die bei raschem Zufügen die Harnstoffsynthese hemmen, läßt den Lebershock nicht zustande kommen, die harnstoffbildende Fähigkeit bleibt erhalten: wir erzeugen Antianaphylaxie.

IV. Die Leber läßt sich aktiv sensibilisieren, sie reagiert mit „Lebershock“ und kann antianaphylaktisch gemacht werden.

V. Der Leber fällt eine wichtige Rolle im anaphylaktischen Symptomenkomplex des Meerschweinchens zu.

VI. Die Tatsache, daß das eigene Blut und Serum des Tieres bei der Hemmung der Harnstoffsynthese beim Lebershock und bei der Antianaphylaxie der Leber keine Rolle spielt, spricht für den zellulären Sitz der Reaktion.

(G. C.)

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Privatdozenten Dr. Rudolf Massini in Basel für die Anregung zu dieser Arbeit sowie für seine Ratschläge und seine Hilfe meinen herzlichsten Dank auszusprechen. Ferner danke ich bestens Herrn Privatdozenten Dr. Wilhelm Loeffler in Basel für seine Unterstützung bei den Versuchen.

Nachdruck verboten.

Zur Extraktfrage bei der Serodiagnose der Syphilis.

Von Stabsarzt Dr. **E. Meinicke.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 16. Juli 1918.)

Am Schluß meiner letzten Arbeit (Berl. klin. Wochenschr., 1918, No. 4) berichtete ich über Versuche in der Richtung, die zur Anstellung meiner Luesreaktion erforderlichen Extrakte aus normalen Menschenherzen zu bereiten. Diese Versuche haben inzwischen zur Erkenntnis gewisser Gesetzmäßigkeiten im Verhalten der auf verschiedene Weise bereiteten Organ-auszüge geführt.

Anfangs ging ich so vor, daß ich auf je 1 g Herzbrei je 4 ccm absoluten Alkohol gab, mehrere Stunden bis zu einem Tage im Schüttelapparat schütteln, einen oder mehrere Tage absitzen ließ und dann durch einfaches Papierfilter filtrierte. Nur in Ausnahmefällen gelang es auf diese Weise, brauchbare Extrakte zu gewinnen. Meist wirkten diese Auszüge aus normalen Menschenherzen nicht genügend fällend auf die Serumproben ein. Dagegen war ein mir von Frl. Margarete Stern (Breslau) gütigst überlassener Menschenherzextrakt für die Wassermannsche Reaktion und meine Reaktion (MR.) fast ebenso gut brauchbar wie die Luesleberextrakte des Wassermannschen Instituts. Frl. M. Stern hatte auch die große Liebenswürdigkeit, mir das Verfahren ihrer Extraktbereitung anzugeben: Auf je 1 g Herzbrei kommen je 9 ccm absoluten Alkohols, das Ganze wird 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen und während dieser Zeit mehrfach mit der Hand umgeschüttelt; darauf Filtration durch Papierfilter. Angeregt durch diese einfache Methode, stellte ich Parallelversuche nach verschiedenen Richtungen an: 1) Werden die Extrakte brauchbarer, wenn man sie lange im Schüttelapparat schütteln läßt, oder wenn sie abgesehen von mehrmaligem leichten Umschwenken ruhig stehen bleiben? 2) Welches quantitative Verhältnis von Herzbrei zu Alkohol ist das

für die Extraktion günstigste? 3) Haben Unterschiede in der Extraktionstemperatur einen Einfluß auf die Wirksamkeit der Extrakte? In diesem Sinne interessierte mich besonders die Temperatur von 55°. Denn zwei Stoffe, die bei meiner Reaktion verstärkend aufs System einwirken, nämlich Natrium glycocholicum und Natrium choleinicum, lösen sich bei 55° in Alkohol weit schneller und ausgiebiger als bei niedrigeren Temperaturen. Es war also wohl denkbar, daß auch aus Organen bei 55° besonders brauchbare Stoffe für meine Reaktion ausgezogen würden. Die Versuche haben diese Annahme bestätigt. Die bei 55° hergestellten Extrakte waren wesentlich wirksamer als die bei 37° oder Zimmertemperatur bereiteten. Weiter zeigte es sich, daß die Extrakte durch das intensive Schütteln im Schüttelapparat keineswegs besser, sondern schlechter werden, daß man also zweckmäßig ohne Schüttelapparat arbeitet, vorausgesetzt, daß das Herz vorher sehr gut zerkleinert war. Vor allem aber erwies sich als ausschlaggebend für die Gewinnung eines brauchbaren Extraktes das richtige quantitative Verhältnis von Herzbrei und Alkohol. Es zeigte sich, daß jedes Herz ein Optimum dieses Verhältnisses aufweist, daß derselbe Herzbrei absolut verschiedene Auszüge liefert, je nachdem er mit geringen oder großen Mengen Alkohol ausgezogen wird. Jedes Herz will in diesem Sinne individuell behandelt werden. Während Herz A optimal ausgezogen wird, wenn man auf 1 g 8 ccm Alkohol gibt, liefert Herz B den besten Extrakt beim Vermischen von 1 g mit 16 ccm Alkohol, Herz C bei 4 ccm und so fort. Es galt also, eine einfache Methode zu finden, um schnell und rechtzeitig bestimmen zu können, wo das Alkoholoptimum für ein beliebiges Herz liegt.

Bereits in No. 4 der Berl. klin. Wochenschr., 1918, machte ich auf die Beobachtung aufmerksam, daß ein Parallelismus besteht zwischen der Brauchbarkeit eines Extraktes für Wassermannsche Reaktion und MR. und seiner Ausfällbarkeit durch Kochsalzlösung. Ich beschrieb dort ein einfaches Verfahren, die Fällbarkeit schnell und hinreichend genau zu bestimmen. Diese Methode wende ich jetzt in einer kleinen Modifikation an: ich nehme nicht mehr steigende Mengen physiologischer Kochsalzlösung, sondern gleiche Mengen verschiedenprozentiger Koch-

salzlösung. Zu diesem Zweck bereite ich mir von physiologischer Kochsalzlösung mit destilliertem Wasser die Verdünnungen 1:2, 1:4 und 1:8 und benutze außerdem physiologische Kochsalzlösung und destilliertes Wasser allein. In 5 Reagenzröhrchen kommen je 0,5 ccm des zu untersuchenden Extraktes. In Röhrchen 1 werden dazu 0,5 ccm destilliertes Wasser pipettiert und schnell durch Schütteln mit dem Extrakt gemischt; in 2 kommen 0,5 ccm der Kochsalzverdünnung 1:8, in 3 der 1:4, in 4 der 1:2 und in 5 0,5 ccm unverdünnte physiologische Kochsalzlösung. Alle Röhrchen werden in gleicher Weise unmittelbar nach schnell ausgeführtem Pipettieren gut durch Schütteln gemischt und bleiben dann 1—2 Stunden bei Zimmertemperatur stehen. Nach dieser Zeit bietet erfahrungsgemäß ein brauchbarer Extrakt folgendes Bild: Das Wasserröhrchen ist leicht getrübt und hat einen hellgrauen Farbenton. Das Röhrchen 2 mit 1:8 verdünnter Kochsalzlösung ist wesentlich stärker getrübt mit einem ins Gelbe spielenden Farbenton. Die 3 anderen Röhrchen weisen eine dichte Trübung auf. Schon mit bloßem Auge oder beim Beschauen mit der Lupe sieht man in ihnen mehr oder weniger stark ausgeprägte Flockung, zunehmend mit dem steigenden Kochsalzgehalt der Röhrchen und mit der Zeit. Sind die Extrakte zu dünn, so ist in den letzten Röhrchen die Flockung nur angedeutet oder fehlt ganz, und die ersten Röhrchen sind mehr oder weniger klar und nicht getrübt. Sind die Extrakte zu dick, so verschiebt sich die milchige Trübung und Ausfällung bis zum zweiten Röhrchen, und auch das Wasserröhrchen ist stark gelblich getrübt. Manchmal reagieren aber auch zu dichte Extrakte paradox, trüben sich selbst im Kochsalzröhrchen wenig und scheiden bei langem Stehen zuweilen ölige Tropfen aus. Man gewinnt mit einiger Uebung durch den beschriebenen Vorversuch ein genügend klares Bild von der Zusammensetzung beliebiger Extrakte.

Die Nutzenanwendung dieser Befunde auf die Extraktbereitung ist einfach. Will man ein Herz zu Extrakt verarbeiten, so setzt man zunächst kleine Mengen Herzbrei mit wechselnden Mengen Alkohol an, schüttelt die Extraktfläschchen mit der Hand einige Male gut um und stellt sie für eine Stunde ins Wasserbad von 55°. Danach läßt man die

Extrakte noch eine Stunde bei Zimmertemperatur stehen und filtriert dann ab. Mit den Filtraten setzt man den eben beschriebenen Vorversuch an. Je nach seinem Ausfall wählt man dann für den übrigen Herzbrei die entsprechende Alkoholmenge aus bzw. verwirft das Herz als ungeeignet, wenn es in keiner Konzentration ein dem Schema entsprechendes Flockungsbild zeigt. Für die endgültige Extraktion lasse ich die Extraktflaschen mindestens 3 Stunden im Wasserbad von 55° unter mehrmaligem Umschütteln und noch über Nacht bei Zimmertemperatur stehen. Der Extrakt wird dann abfiltriert und ist gebrauchsfertig. Ist man sich nach dem Ausfall des Vorversuches nicht ganz klar über die beste Alkoholkonzentration, so kann man das Herz in 2 Portionen mit verschiedenen Alkoholmengen ausziehen, die möglichst dem Optimum nahekommen. Ist die eine Konzentration dann zu stark und die andere etwas zu schwach ausgefallen, so kann man durch Vermischen der Extrakte den richtigen Grad erreichen. Man kann auch den Organbrei mehrerer Herzen zusammenmischen und gemeinsam ausziehen. Entscheidend für die zu wählende Alkoholmenge ist auch dann der entsprechende Vorversuch mit dem Gemisch. Mit dieser Methode ist es mir gelungen, aus fast allen verarbeiteten Menschenherzen brauchbare Extrakte zu gewinnen. Im allgemeinen verlangen frische feste Herzen wenig Alkohol zur Extraktion, weiche, matschige dagegen muß man mit großen Alkoholmengen ausziehen. Es bleibe vorläufig dahingestellt, ob diese Unterschiede auf dem wechselnden Gehalt des Herzbreis an Wasser oder auf dem nach Art der Erkrankung und nach der seit dem Tode verstrichenen Zeit schwankenden Gehalt an leicht extrahierbaren wirksamen Substanzen beruhen.

Ob sich die zunächst bei der MR. gewonnenen Erkenntnisse auch auf die Bereitung von Extrakten für die Wassermannsche Reaktion übertragen lassen, bedarf noch weiterer Untersuchung. Bekanntlich stellt sich fast jeder Untersucher die Extrakte für die Wassermannsche Reaktion auf seine eigene Weise her. Und alle die von den verschiedenen Seiten angegebenen Methoden weichen wesentlich voneinander ab. Allgemeine Grundsätze für die Herstellung brauchbarer Wassermann-Extrakte gibt es noch nicht, so dringend das Bedürfnis

danach auch ist. Vielleicht eröffnen die mitgeteilten Untersuchungen einen gangbaren Weg in dieser Richtung. Leider ist nicht bekannt, wie die Extrakte im Wassermannschen Institut hergestellt werden. Lange (Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exper. Ther., Bd. 26, Heft 4) beschränkt sich auf die kurze Bemerkung: „... unsere jetzt recht konzentriert hergestellten, heiß extrahierten Extrakte ...“ Jedem Untersucher wird aufgefallen sein, daß die Extrakte des Wassermannschen Instituts in letzter Zeit sehr gleichmäßig und gut ausgefallen sind. Und es ist sicher kein Zufall, daß mit dieser guten Brauchbarkeit für die Wassermannsche Reaktion eine gleiche für die MR.¹⁾ parallel geht und daß alle Wassermann-Extrakte jetzt in dem oben beschriebenen Kochsalzversuch übereinstimmend das Flockungsbild eines brauchbaren Extraktes geben. Sie sind sich offenbar in ihrer inneren Zusammensetzung außerordentlich ähnlich und geben daher bei ihrer Verwendung auch nur unbedeutende, ganz vereinzelte Differenzen.

Zusammenfassung.

Die Brauchbarkeit alkoholischer Menschenherzextrakte für die MR. ist von folgenden Bedingungen abhängig: 1) der Extraktionstemperatur, 2) dem Grade des Schüttelns, 3) dem relativen Mengenverhältnis von Organbrei und extrahierendem Alkohol.

1) Aus neueren technischen Erfahrungen mit der MR., die sich in der Praxis im großen aufs beste bewährt, seien bei dieser Gelegenheit einige Punkte von praktischer Bedeutung hervorgehoben:

a) Das destillierte Wasser, mit dem der Extrakt verdünnt wird, muß absolut rein sein. Enthält es Spuren von Leitungswasser (durch Undichtigkeiten der Kühlschlange oder dgl.), so verstärken die Salze des Leitungswassers den Versuch nach der positiven Seite bzw. geben Eigenhemmung. Der Versuch reagiert dann nicht mehr scharf auf Kochsalzlösung und gibt unbrauchbare Resultate.

b) Nochmals sei betont, daß der Brutschrank nie über 37° steigen darf. Man stellt ihn am besten auf etwa 35° ein, damit er auch nicht nachts bei steigendem Gasdruck die kritische Temperatur übersteigt. Sonst bekommt man ebenfalls Eigenhemmung bzw. unspezifische Versuchsergebnisse.

(G. C.)

Nachdruck verboten.

[Aus dem Kgl. Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M., Direktor: Geh. Med.-Rat Professor Dr. W. Kollo. (Experimentell-biologische Abteilung: Professor Dr. H. Sachs).]

Die Bedeutung der Extraktbeschaffenheit für die Ausflockung des syphilitischen Blutserums.

Von Dr. W. Georgi, Assistenten am Institut.

(Eingegangen bei der Redaktion am 29. Juli 1918.)

In einer demnächst erscheinenden Mitteilung haben Sachs und Georgi¹⁾ eine Methodik der Ausflockung beschrieben, die in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle mit der Wassermannschen Reaktion zu gleichsinnigen Ergebnissen führte²⁾. Die Anordnung zeichnet sich durch Einfachheit der Ausführung und leichte Beurteilung aus. Wesentlich dabei ist die Benutzung cholesterinierter Extrakte bei geeigneter Verdünnung und die Beurteilung des Ergebnisses im Agglutinoskop nach Kuhn und Woithe. Auf die praktische Bedeutung für den serologischen Luesnachweis soll an dieser Stelle nicht eingegangen werden. Wenn auch die bisherigen Versuche in dieser Hinsicht günstig ausfielen, so muß diese Frage doch weiterer praktisch-klinischer Erprobung vorbehalten bleiben. Jedenfalls aber hat sich schon bisher ergeben, daß für die Verwendung dieser Ausflockungsreaktion zur Serodiagnostik die Bereitung geeigneter Extrakte von wesentlicher Bedeutung ist. Es gibt Extrakte, die sich anscheinend für Wassermannsche Reaktion und Ausflockungsreaktion gleich gut eignen, andererseits können aber Extrakte, die für die Wassermannsche Reaktion gut brauchbar sind, einer hinreichenden Empfindlichkeit für die Ausflockung ermangeln. Als bestimmend für die Brauchbarkeit der Extrakte für die Flockungsreaktion hat

1) Anmerkung während der Korrektur: Inzwischen erschienen: H. Sachs und W. Georgi, Med. Klinik, 1918, No. 33.

2) Bezüglich Literatur über die Ausflockung bei Syphilis sei auf die genannte Arbeit von Sachs und Georgi verwiesen.

sich ein Cholesterinzusatz ergeben, in welchem bereits Sachs und Rondoni ein Mittel gefunden hatten, um die Brauchbarkeit der Extrakte für die Wassermannsche Reaktion nicht unerheblich zu steigern. Es ist daher nicht nur von theoretischer, sondern in bezug auf die Anwendung des Ausflockungsverfahrens für die Serodiagnostik auch von praktischer Bedeutung, die Rolle des Cholesterinzusatzes für die Flockung zu analysieren und zugleich die Beziehungen zum Verhalten der Extrakte bei der Wassermannschen Reaktion näher zu erforschen. Ich glaube deshalb in folgendem über Versuche berichten zu dürfen, die die Rolle des Extraktes und seiner Zusammensetzung bei der Ausflockung zu ergründen suchten¹⁾.

Methodisch sei hier, unter Verweis auf die erste Mitteilung von Sachs und Georgi, kurz rekapituliert, daß die Ausflockungsreaktion nach der bisherigen Methode folgendermaßen auszuführen ist.

Es wird jeweils 1 ccm 10-fach verdünntes Patientenserum, das zuvor $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° inaktiviert ist, mit 0,5 ccm 6-fach mit physiologischer Kochsalzlösung (fraktioniert) verdünntem Extrakt gemischt und nach 2-stündigem Aufenthalt im Brutschrank und ca. 18-stündigem Verweilen bei Zimmertemperatur unter Vergleich der nötigen Kontrollen (Serumkontrolle mit 6-fach verdünntem Alkohol statt Extrakt, Extraktkontrolle mit 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung an Stelle des Patientenserums) im Agglutinoskop auf Ausflockung geprüft. Das Ergebnis wird als positiv (+++, ++, +, je nach dem Grade), zweifelhaft (\pm bei der Grenze der Homogenität) und negativ (—) bewertet.

Meine Versuche beziehen sich vorwiegend auf alkoholische Rinderherzextrakte, die durch Extraktion von einem Gewichtsteil feuchter Herzmuskelsubstanz mit 5 Volumenteilen Alkohol unter Schütteln gewonnen sind. Bei diesen Rinderherzextrakten zeigt sich nun ebenso, wie das Sachs bei der Wassermannschen Reaktion gefunden hat, die Bedeutung des Cholesterinzusatzes in quantitativer Hinsicht. Aber hier ist dieser Cholesterinzusatz noch weit mehr ausschlaggebend als bei der Wassermannschen Reaktion. Während uncholesterinierte Rinderherzextrakte nach unseren bisherigen Erfahrungen nur in verhältnismäßig wenigen Fällen

1) Die Versuche wurden zum größten Teil von Fräulein Gertraudis Klinkhart ausgeführt.

mit syphilitischen Seris Ausflockungen ergeben¹⁾, gelingt es durch geeignete Cholesterinierung, in der Empfindlichkeit bei der Ausflockung der Wassermannschen Reaktion gleichzukommen.

Dabei ist zu berücksichtigen, daß die Menge des Cholesterinzusatzes von der Extraktkonzentration abhängig ist, d. h. je mehr der Rohextrakt mit Alkohol verdünnt wird, desto geringer sind die Cholesterinmengen, die als Zusatz erforderlich sind, um zur geeigneten Empfindlichkeit zu gelangen, und vertragen werden, ohne die Grenzen der serodiagnostisch verwendbaren Ausflockungsbreite zu überschreiten. Das gleiche gilt übrigens auch für die Wassermannsche Reaktion.

Die Bedeutung des Cholesterinzusatzes illustriert folgendes Versuchsbeispiel.

Je 1 ccm 10-fach verdünnten, inaktiven Patientenserums (1—11) wird mit je 0,5 ccm 6-fach mit physiologischer Kochsalzlösung fraktioniert verdünntem Rinderherzextrakt gemischt. Als Extrakt wurde benutzt:

in Reihe A: roher Rinderherzextrakt XXI;

„ „ B: desgleichen, aber 3-fach mit Alkohol verdünnt;

„ „ C: wie B, aber auf 10 ccm Zusatz von 0,45 ccm 1-proz. alkoholischer Cholesterinlösung.

Das Ergebnis zeigt Tabelle I.

Tabelle I.

Serum	Ergebnis bei			
	Wa.R.	Ausflockung mit		
		A. Rohextrakt	B. $\frac{1}{3}$ Extrakt	C. $\frac{1}{3}$ Extrakt + Cholesterin
1	+	+++	++	+++
2	+	++	—	+++
3	+	±	—	++
4	+	±	—	++
5	+	—	—	+
6	+	—	—	+
7	?	—?	—	±
8	—	—	—	—
9	—	—	—	—
10	—	—	—	—
11	—	—	—	—

1) Nach Meinicke fallen die Rinderherzextrakte zwar mit gewissen Ausnahmen nur die syphilitischen Sera; es handelt sich hierbei jedoch um Fällung im salzarmen Medium.

Die Tabelle zeigt, daß der Rohextrakt nur in wenigen Fällen mit wassermannpositiven Seren Ausflockung ergibt, daß dagegen bei geeigneter Cholesterinierung und entsprechender Verdünnung¹⁾ eine Parallelität der Ausflockung mit dem Ergebnis der Wassermannschen Reaktion zu erzielen ist. Hervorgehoben zu werden verdient die Tatsache, daß die in der Tabelle I, Kolonne C sich ergebende, geeignete Verdünnung und Cholesterinierung derjenigen entspricht, die wir seit vielen Monaten auch bei der Wassermannschen Reaktion für diesen Extrakt als optimal gefunden haben. Es besteht also hierin Uebereinstimmung zwischen der Wassermannschen Reaktion und unserer Anordnung der Ausflockung.

Schon aus diesen Versuchen ergibt sich, daß der Kernpunkt für die praktische Verwertbarkeit der Ausflockungsreaktion — wenigstens bei Verwendung von Rinderherzextrakten und der von uns geübten Herstellungsart — die geeignete Cholesterinierung ist. Geht man über den optimalen Cholesteringehalt hinaus, so sind die Extrakte nicht mehr brauchbar, sei es, daß sie mit Patientenserum nicht mehr für Syphilis charakteristisch reagieren, sei es, daß sie an und für sich von vornherein oder bei längerem Stehen Flockungen ergeben. Nach den vorhergehenden Ausführungen ist es verständlich, daß die Grenzen der Cholesterinierung um so eher überschritten werden, je verdünnter der Extrakt ist, d. h. je weniger konzentriert die Extraktstoffe im Verhältnis zum Cholesteringehalt vorhanden sind, wie es folgendes Versuchsbeispiel in der Tat zeigt.

Je 1 ccm 10-fach verdünnten inaktiven Patientenserums (a—d) wird mit je 0,5 ccm Extraktverdünnung gemischt. Als Extrakt dient

- A. roher Rinderherzextrakt,
- B. mit Alkohol 2-fach verdünnter Rinderherzextrakt,
- C. „ „ 3-fach „ „
- D. „ „ 5-fach „ „

1) Die Verdünnung der Rohextrakte mit Alkohol kann zuweilen schon deswegen erforderlich werden, weil unter Umständen konzentrierte Extrakte an und für sich beim Verdünnen mit NaCl-Lösung ausfallen können.

Die verschiedenen Extraktverdünnungen (A—D) enthalten außerdem auf 5 ccm:

- I. je 0,25 ccm 1-proz. alkoholische Cholesterinlösung,
 II. je 0,5 " " " "
 III. je 1,0 " " " "
 IV. je 1,5 " " " "

In Reihe e werden die Extraktverdünnungen zur Kontrolle mit NaCl-Lösung (anstatt mit Patientenserum) gemischt.

Das Ergebnis zeigt Tabelle II.

Tabelle II.

Extrakt	Ergebnis der Ausflockung				
	Serum a Wa.R. +	Serum b Wa.R. +	Serum c Wa.R. —	Serum d Wa.R. —	^e Extrakt- kontrolle
A. I. roh + 0,25 ccm Chol.	+++	++	—	—	—
II. roh + 0,5 " "	+++	++	—	—	—
III. roh + 1,0 " "	+++	+++	—	+	—
IV. roh + 1,5 " "	+++	+++	+	+	?
B. I. $\frac{1}{3}$ + 0,25 ccm Chol.	+++	++	—	—	—
II. $\frac{1}{3}$ + 0,5 " "	+++	++	—	—	—
III. $\frac{1}{3}$ + 1,0 " "	+++	+++	+	++	—
IV. $\frac{1}{2}$ + 1,5 " "	+++	+++	+	++	+
C. I. $\frac{1}{3}$ + 0,25 ccm Chol.	+++	++	—	—	—
II. $\frac{1}{3}$ + 0,5 " "	+++	+++	?	+	—
III. $\frac{1}{3}$ + 1,0 " "	+++	+++	+	+	++
IV. $\frac{1}{8}$ + 1,5 " "	+++	+++	++	++	++
D. I. $\frac{1}{6}$ + 0,25 ccm Chol.	+++	++	—	—	—
II. $\frac{1}{6}$ + 0,5 " "	+++	+++	++	+	—
III. $\frac{1}{6}$ + 1,0 " "	+++	+++	++	++	++
IV. $\frac{1}{6}$ + 1,5 " "	+++	+++	++	++	+++

Aus der Tabelle ergibt sich, daß mit zunehmendem Cholesteringehalt die Differenzierungsmöglichkeit allmählich schwindet und schließlich schon die Extraktkontrolle allein positiv ausfällt, d. h. daß sich schon in dem mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten Extrakt Flockung zeigt. Die derart vertragene Cholesterinmenge ist, wie gleichfalls aus der Tabelle hervorgeht, um so größer, je konzentrierter der Extrakt zur Verwendung gelangt. Es wird daher weiterer Erprobung bedürfen, ob man die Brauchbarkeit der Ausflockungsreaktion durch Verwendung konzentrierterer Extrakte mit größerem Cholesterinzusatz steigern kann. Im anderen Falle haben natürlich die verdünnten und schwach cholesterinierten

Extrakte den Vorteil, daß es gelingt, aus verhältnismäßig geringer Materialmenge einen größeren Bedarf an Extrakt-reagens zu decken.

Bei geeignet bereiteten und cholesterinierten Extrakten spielt nun, wie schon erwähnt, die Verdünnungsart eine wichtige Rolle. Ebenso wie es nach Sachs und Rondoni bei der Wassermannschen Reaktion der Fall ist und es Meinicke für die von ihm beschriebene zweizeitige Ausfällungsreaktion angegeben hat, steigt mit der verlangsamten (fraktionierten) Verdünnung auch die Empfindlichkeit der Extrakte bei der Ausflockung. Auch hier gibt es Grenzen, und es ist daher von Sachs und Georgi für praktische Zwecke empfohlen worden, gleiche Teile Extrakt und physiologische Kochsalzlösung zunächst rasch zu mischen, einmal vorsichtig umzuschwenken und darauf durch weitere Kochsalzzugabe die ursprüngliche Extraktmenge auf das 6-fache zu verdünnen. Nimmt man nämlich die Verdünnung zu langsam vor, so läuft man Gefahr, daß die Extraktverdünnung bereits an und für sich ausfällt, was nicht immer sofort, oft erst nach längerem Stehen sichtbar wird.

Bei der zweizeitigen Ausflockungsmethode nach Meinicke ist diese Grenze nicht so eng gezogen, weil die Extraktverdünnung mit salzfreiem Wasser vorgenommen wird. Bei unserer Anordnung hingegen wird der Extrakt mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, und es macht sich dadurch mit der Vergrößerung der dispersen Phase bei zu langsamem Verdünnen eine gesteigerte Elektrolytempfindlichkeit markanter bemerkbar.

Das folgende Versuchsbeispiel zeigt diese Verhältnisse und demonstriert zugleich den Einfluß längeren Stehens der fertigen Extraktverdünnung vor Gebrauch.

Je 1 ccm 10-fach verdünnten Patientenserums (inaktiviert, 1–12) wird mit je 0,5 ccm 6-fach mit Kochsalzlösung verdünnten Extraktes gemischt, und zwar ist die Extraktverdünnung:

- I. durch rasches Verdünnen,
- II. durch fraktioniertes Verdünnen,
- III. durch fraktioniertes Verdünnen und nachheriges 24-stündiges Lagern bei Zimmertemperatur,
- IV. durch ganz langsames Verdünnen unter Schütteln hergestellt.

Reihe V gibt die Resultate der Wassermannschen Reaktion wieder.

Das Ergebnis zeigt Tabelle III.

Tabelle III.

Extrakt	Ausflockung von Patientensera (1—12) durch cholesterinierten Extrakt												Ex- trakt- kon- trolle
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
I. rasch verdünnt	++	++	++	—	+	±	—	—	—	—	—	—	—
II. fraktioniert ver- dünnt	+++	++	+++	+	++	++	—	—	—	—	—	—	—
III. fraktioniert ver- dünnt und gelagert	+++	++	+++	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—
IV. sehr langsam ver- dünnt	+++	++	++	++	+++	++	+	+	+	+	+	+	+
V. Ergebnis der Wasser- mannschen Reaktion	+	+	+	+	schwach +	schwach +	—	—	—	—	—	—	—

Aus der Tabelle ergibt sich, daß die Empfindlichkeit der Reaktion bei in geeigneter Weise fraktionierter Verdünnung des Extraktes gegenüber der rasch vorgenommenen Verdünnung gesteigert ist. Es ist nicht ohne Interesse, daß beim vorhergehenden Lagern einer geeigneten Extraktverdünnung eine Zunahme der Empfindlichkeit der Ausflockungsreaktion nicht stattfindet, wie man es vielleicht unter der Annahme der Vergrößerung der Extraktteilchen beim Lagern erwarten sollte. Es scheint im Gegenteil eine Abnahme der Empfindlichkeit stattzufinden (vgl. Spalte III der Tabelle), die in einigen Versuchen nach 48-stündigem Lagern der Extraktverdünnung noch stärker in Erscheinung trat ¹⁾.

Teil IV der Tabelle III zeigt, daß bei sehr langsam unter Schütteln verdünnten Extrakten die Extraktkontrolle bereits Flockung aufweist. Eine derartige Verdünnung ist selbstverständlich für praktische Zwecke nicht brauchbar, da eine Differenzierung auf Grund quantitativer Abschätzung der Ausflockungsstärke nicht angängig ist. Zur Wassermannschen Reaktion erweisen sich übrigens auch solche Extraktverdünnungen, die absichtlich so verdünnt waren, daß sie von vorn-

1) Verwiesen sei auf die Angaben von Meinicke, nach denen sich bei Extraktverdünnungen in destilliertem Wasser das Fällungsvermögen stark wirksamer Extrakte beim Stehen erhöht, dasjenige schwach wirksamer Extrakte sich weiter abschwächt.

herein Flocken zeigten, in gleicher Weise geeignet wie die homogenen. Es entspricht das auch wohl anderweitigen Erfahrungen.

Daß die Verdünnungsart von wesentlicher Bedeutung ist, dafür sprechen auch einige orientierende Versuche, in denen ich Extrakte mit stärkerem Cholesteringehalt für die rasche Verdünnungsweise geeignet zu machen suchte. Es ist mir auf diese Weise nicht gelungen, die gleiche Empfindlichkeit wie bei langsamer Verdünnung zu erzielen, und es zeigt dies zugleich, daß der Cholesterinzusatz zwar für die Rinderherzextrakte wesentlich ist, aber als einfacher chemischer Zusatz nicht genügt, sofern die durch besondere Verdünnungsart erreichbare geeignete kolloidchemische Beschaffenheit der Extraktteilchen fehlt.

Zeigen die bisher mitgeteilten Versuche, von wie großer Bedeutung Cholesteringehalt und Verdünnungsart für die Brauchbarkeit der Extrakte zur Ausflockung sind, so ist zu berücksichtigen, daß sich die bisherigen Ausführungen auf Rinderherzextrakte bestimmter Bereitung beziehen. Es wäre durchaus denkbar, daß durch Variation der Bereitungsweise geeignete Stoffe in den alkoholischen Extrakt gehen, die ihn bereits ohne Cholesterinzusatz zur Ausflockung geeignet machen, und man würde auch dabei an den Cholesteringehalt der Organe denken dürfen. Weitere Versuche werden zeigen müssen, ob etwa dadurch eine günstigere Zusammensetzung sich erzielen läßt.

Es wird ferner von Bedeutung sein, auch für die Ausflockung mehrere Extrakte verschiedener Herkunft heranzuziehen. Denn ebenso wie bei der Wassermannschen Reaktion durch die Benutzung verschiedener Extrakte Empfindlichkeit und Sicherheit der Beurteilung mit Steigerung der Extraktzahl zunehmen, wie das insbesondere von Kolle betont wird, so werden auch für die Ausflockungsreaktion die Grundlagen einer praktischen Verwendbarkeit unter Benutzung mehrerer Extrakte gefestigt werden. Ich habe daher auch Meerschweinchenherz- und Luesleberextrakte zu den Versuchen herangezogen und im wesentlichen hier dieselben Ergebnisse erhalten wie mit Rinderherzextrakten. Während auch diese Extrakte ohne Cholesterinzusatz nur wenige wassermannpositive Sera anzeigten, ergab sich auch

hier die bemerkenswerte Steigerung der Empfindlichkeit mit dem Cholesterinzusatz.

Je 1 ccm 10-fach verdünnten inaktivierten Patientenserums (1—8) wird mit je 0,5 ccm 6-facher Extraktverdünnung gemischt. Als Extrakt dient:

- I. 3-fach mit Alkohol verdünnter Meerschweinchenherzextrakt,
 - A. ohne weiteren Zusatz,
 - B. unter Zusatz von 0,2 ccm 1-proz. Cholesterin auf 5 ccm.
- II. 2-fach mit Alkohol verdünnter Luesleberextrakt,
 - A. ohne weiteren Zusatz,
 - B. unter Zusatz von 0,2 ccm 1-proz. Cholesterin auf 5 ccm.

Das Ergebnis zeigt Tabelle IV.

Tabelle IV.

Serum	Wa.R.	Ergebnis bei der Ausflockung mit			
		I. Meerschweinchenherzextrakt		II. Luesleberextrakt	
		A.	B.	A.	B.
		ohne Cholesterin	mit Cholesterin	ohne Cholesterin	mit Cholesterin
1	+	+	+++	+	+
2	+	±	+++	±	++
3	+	±	++	—	+
4	+	—	++	—	+
5	+	—	++	—	±
6	—	—	—	—	—
7	—	—	—	—	—
8	—	—	—	—	—

Aus der Tabelle ergibt sich, daß sowohl beim Meerschweinchenherzextrakt als auch beim Luesleberextrakt ohne Cholesterinzusatz nur in wenigen Fällen, mit Cholesterinzusatz in allen Fällen Gleichsinnigkeit mit der Wassermannschen Reaktion erzielt worden ist. In der Stärke der Ausflockung zeigen sich naturgemäß Differenzen; der Meerschweinchenherzextrakt erweist sich empfindlicher als der Luesleberextrakt.

Während bei den genannten Extrakten etwa durch gleichen Cholesterinzusatz optimale Bedingungen für die Wassermannsche Reaktion und für die Ausflockung erzielt wurden, habe ich bei Extrakten anderer Herkunft einen derart engen Parallelismus nicht gesehen. So haben einige Versuche mit Extrakten aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für

experimentelle Therapie (Berlin-Dahlem) gezeigt, daß sie zwar von vornherein für die Wassermannsche Reaktion vorzüglich geeignet waren, bei der Ausflockung aber in einer erheblichen Zahl der Fälle versagten. Aber auch bei diesen Extrakten gelang es meist durch Cholesterinzusatz, die Brauchbarkeit für die Ausflockung zum mindesten zu steigern, wie das z. B. folgender Versuch demonstriert.

Je 1 ccm 10-fach verdünnten Patientenserums (inaktiviert) (1–6) wird mit 0,5 ccm 6-fach fraktioniert verdünntem Extrakt gemischt; als Extrakt dient:

- I. cholesterinierter Rinderherzextrakt 21.
- II. Extrakt Kaiser Wilhelm-Institut No. 21.
- III. derselbe cholesteriniert, und zwar 5 ccm + 0,2 ccm 1-proz. Cholesterinlösung.

Das Ergebnis zeigt Tabelle V.

Tabelle V.

Serum	Ergebnis bei der			
	Wa.R.	Ausflockung mit		
		I. cholesteriniertem Rinderherzextrakt	II. Extrakt K.W.I. No. 21	III. Extrakt K.W.I. No. 21 cholesteriniert
1	+	+++	—	+++
2	+	+++	+++	++
3	+	+	±	++
4	—	—	—	—
5	—	—	—	—
6	—	—	—	—

Wenn auch die Versuche mit Verwendung von Extrakten verschiedener Herkunft noch nicht als abgeschlossen gelten können, so scheint sich doch so viel zu ergeben, daß es auch aus verschiedenem Material durch geeignete Cholesterinierung gelingt, brauchbare Extraktreagentien für die Ausflockung zu bereiten.

Für eine praktische Verwertung wird es sich daher, ebenso wie bei der Wassermannschen Reaktion, empfehlen, mit einer Mehrzahl von Extrakten zu arbeiten, und Versuche, die ich dementsprechend, einer Anregung von Herrn Geheimrat Kolle folgend, begonnen habe, deuteten bereits darauf hin, daß unter Verwendung mehrerer Extrakte auch bei der Aus-

flockung ein Extrakt für das eine, ein anderer für ein anderes Serum besser geeignet sein kann, wie es folgendes Beispiel zeigt.

Je 1 ccm 10-fach verdünnten Patientenserums (inaktiviert) (1—12) wird mit 0,5 ccm 6-fach fraktioniert verdünntem Extrakt gemischt; als Extrakt dient:

I. Rinderherzextrakt a, 3-fach in Alkohol verdünnt, 10 ccm + 0,45 ccm 1-proz. Cholesterin.

II. Rinderherzextrakt b, 3-fach in Alkohol verdünnt, 5 ccm + 0,4 ccm 1-proz. Cholesterin.

III. Rinderherzextrakt c, 3-fach in Alkohol verdünnt, 5 ccm + 0,4 ccm 1-proz. Cholesterin.

IV. Meerschweinchenherzextrakt, 3-fach in Alkohol verdünnt, 5 ccm + 0,2 ccm 1-proz. Cholesterin.

V. Luesleberextrakt, 2-fach in Alkohol verdünnt, 5 ccm + 0,25 ccm 1-proz. Cholesterin.

In Reihe VI wird als Kontrolle statt Extrakt 6-fach verdünnter Alkohol (Serumkontrolle) benutzt.

In Reihe VII ist das Ergebnis der Wassermannschen Reaktion eingetragen.

Das Ergebnis zeigt Tabelle VI.

Tabelle VI.

Extrakt	Ausflockung bei Serum												Extrakt-kontrolle
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
I. cholest. Rinderherzextrakt a	++	++	+++	++	+	+	—	?	—	—	—	—	—
II. cholest. Rinderherzextrakt b	++	+++	++	+	+	+	—	?	—	—	—	—	—
III. cholest. Rinderherzextrakt c	++	+++	+++	+	+	±	—	?	—	—	—	—	—
IV. Meerschweinchenherzextrakt	++	++	+++	+++	+	+	—	?	—	—	+	—	—
V. Luesleberextrakt	+	+++	+++	+	—	—	—	?	—	—	—	—	—
VI. Serumkontrolle	—	—	—	—	—	—	—	?	—	—	—	—	—
VII. Wassermannsche Reaktion	+	+	+	schwach +	schwach +	zweifelhaft	—	—	—	—	—	—	—

Aus der Tabelle ergibt sich zunächst, daß der Luesleberextrakt wenig empfindlich ist. Bei den übrigen Extrakten zeigt sich ziemliche Uebereinstimmung, doch sind auch Unterschiede vorhanden, die erwähnenswert erscheinen. So ist z. B. die Reagierbarkeit des Serums No. 3 mit Rinder-

herzextrakt c stärker als mit Rinderherzextrakt b, während für das Serum No. 6 das Umgekehrte gilt. Serum No. 8 ist insofern von Interesse, als hier die Serumkontrolle bereits fraglich erscheint, d. h. es ist zwar keine deutliche Ausflockung eingetreten, aber die Grenze der Homogenität ist erreicht. Eine falsche Diagnose kann aber unter Berücksichtigung der Serumkontrolle nicht entstehen.

Bemerkenswert ist, daß Serum No. 11 nur mit dem Meerschweinchenherzextrakt Ausflockung ergeben hat. Es sei hierbei erinnert, daß Meerschweinchenherzextrakte auch bei der Wassermanschen Reaktion unter Umständen zu uncharakteristischen Reaktionen neigen, und sie müssen daher mit besonderer Vorsicht eingestellt werden, um praktisch verwertbar zu sein. Bei Verwendung einer Mehrzahl verschiedener Extrakte wird allerdings ein derartiges Ergebnis nicht zu falscher Beurteilung führen, zumal wenn man, wie das auch für die Wassermannsche Reaktion gilt, ein einmaliges positives Ergebnis mit nur einem Extrakt ohne sonstige Anhaltspunkte für Lues nicht im Sinne einer positiven Syphilisdiagnose verwertet.

Von Interesse und für den Zusammenhang zwischen der Ausflockungs- und der Wassermannschen Reaktion sprechend ist aber die Tatsache, daß auch Meerschweinchenherzextrakte, die nicht hinreichend charakteristisch reagierten oder absichtlich nach dem von mir an anderer Stelle beschriebenen Vorgange durch vorhergehende Fäulnis der Herzen unspezifisch bereitet sind, bei der Wassermannschen Reaktion und der Ausflockung einen weitgehenden Parallelismus aufweisen. Ich habe bei solchen Extrakten meist gesehen, daß bei unspezifischer Ausflockung auch die Wassermannsche Reaktion positiv ausfiel, während die gleichen Sera mit anderen Extrakten sowohl bei der Flockungs- als auch bei der Wassermannschen Reaktion negativ reagierten. Bei dem Interesse, das dieses Verhalten beanspruchen dürfte, möchte ich auch hierfür einige Beispiele anführen.

1 ccm 10-fach verdünntes Patientenserum (inaktiv) wird mit 0,5 ccm 6-fach fraktioniert verdünntem Extrakt gemischt; als Extrakt dient:

- I. Meerschweinchenherzextrakt (cholesteriniert),
- II. Rinderherzextrakt (cholesteriniert).

In Kolonne A ist das Ergebnis der Ausflockungsreaktion, in Kolonne B dasjenige der Wassermannschen Reaktion eingeschrieben.

Das Ergebnis zeigt Tabelle VII.

Tabelle VII.

Patienten- sera (sämtlich wassermann- negativ)	Ergebnis mit			
	I. cholest. Meerschweinchenherz- extrakt bei der		II. cholest. Rinderherzextrakt bei der	
	A. Ausflockung	B. Wassermannschen Reaktion	A. Aus- flockung	B. Wassermann- schen Reaktion
1	+++	völlige Hemmung	—	—
2	++	dgl.	—	—
3	+	"	—	—
4	±	"	—	—
5	±	"	—	—
6	+	partielle Hemmung	—	—
7	±	dgl.	—	—
8	±	"	—	—

Die Tabelle VII zeigt, daß auch bei der Verwendung eines nicht streng spezifischen Extraktes¹⁾ ein Parallelismus zwischen Wassermannscher Reaktion und Ausflockung besteht. Diese Tatsache im Verein mit den schon angeführten Ergebnissen ist gewiß geeignet, eine einheitliche **primäre** Ursache für das Zustandekommen der Wassermannschen Reaktion und der Ausflockung anzunehmen. Allerdings wird man dies dahin einschränken müssen, daß mit der Wassermannschen Reaktion nicht ohne weiteres die Bedingungen zur Ausflockung gegeben sind, und nur so ist es zu verstehen, daß trotz der zahlreichen früheren Bemühungen die praktische Verwertung der direkten Ausflockungsreaktionen nicht den an sie gestellten Anforderungen und Erwartungen entsprach. In diesem Sinne sprechen auch unsere Versuche mit den Extrakten aus dem Kaiser Wilhelms-Institut für experimentelle Therapie, die bei guter Eignung zur Wassermannschen Reaktion des Chole-

1) Der Mangel an Spezifität ist bei diesem Extrakt nicht etwa durch Eigenhemmung bedingt; vielmehr erwiesen sich trotz uncharakteristischer Ergebnisse bei der Wassermannschen Reaktion die Kontrollen einwandfrei.

sterinzusatzes bedurften, um hinreichend empfindlich für die Ausflockung zu werden. Offenbar bewirkt eben der Cholesterinzusatz bei Verwendung der von uns benutzten Extrakte, daß die Veränderung, die durch das Zusammenwirken von Extrakt und Syphilitiker Serum eintritt und die Ursache des Komplementschwundes bei der Wassermannschen Reaktion darstellt, über das primäre Stadium, das nach Sachs u. a. gewissermaßen schon „in statu nascendi“ für die Komplementinaktivierung ausreicht, hinausgeht und zur sichtbaren Ausflockung führt.

Zusammenfassung.

1) Bei der Ausflockung von syphilitischem Blutserum durch Rinderherzextrakt nach Sachs und Georgi spielt der Cholesteringehalt bzw. der Cholesterinzusatz eine wesentliche Rolle.

2) Der geeignete Cholesteringehalt darf über ein bestimmtes Optimum nicht hinausgehen. Bei einem Cholesterinüberschuß, der um so eher erreicht ist, je verdünnter die Extraktlipide sind, entsteht unter sonst gleichen Bedingungen Eigenflockung des Extraktes.

3) Der Extrakt muß in geeigneter Weise, langsam, verdünnt werden. Bei zu raschem Verdünnen sinkt die Empfindlichkeit, bei zu langsamem Verdünnen entsteht Eigenflockung.

4) Auch Extrakte aus anderem Material, so Meerschweinchenherzextrakte, Lueslebextrakte, können sich bei geeigneter Cholesterinierung für die Ausflockung eignen.

5) Ebenso wie bei der Wassermannschen Reaktion scheint auch für eine praktische Verwertung der Ausflockung zur Serodiagnostik die Benutzung einer Mehrzahl von Extrakten vorteilhaft zu sein.

6) Im allgemeinen besteht ein Parallelismus zwischen Wassermannscher Reaktion und Ausflockung. Gewisse Meerschweinchenherzextrakte, die bei der Wassermannschen Reaktion uncharakteristisch reagierten, zeigten ein gleiches Verhalten auch bei der Ausflockung. (G. C.)

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich
(Direktor: Prof. Silberschmidt).]

Zur Frage der Titersteigerung durch Blutentziehungen.

Von **R. Klinger.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 20. September 1918.)

Vor kurzem wurde von M. Hahn und H. Langer an dieser Stelle¹⁾ über hochgradige Erhöhung des Agglutinin-gehaltes berichtet, welche in Immunkaninchen durch wiederholte größere Blutentziehungen willkürlich hervorgerufen werden können. Es gelang, den Agglutinintiter nach wenigen Blut-entnahmen innerhalb weniger Tage um das 6—10-fache, in manchen Fällen aber sogar um das 1000-fache zu steigern und nach 5—15 Blutentziehungen eine solche Vermehrung der Agglutinine zu erzeugen, daß bei einigen Tieren noch in 3—128-millionenfacher Verdünnung des Serums spezifische Agglutination auftrat. Diese Angaben waren um so auffallender, als die Autoren bei derselben Methodik keine Zunahme der Präzipitine und Hämolsine bemerken konnten, eine Beobachtung, welche eine eigenartige Differenz zwischen den Bakterienagglutininen und den anderen Antikörpern aufgedeckt hätte. Das Phänomen schien mir deshalb vom eiweiß-chemischen und serologischen Standpunkte aus sehr beachtenswert, und ich ging sofort, nachdem mir die betreffende Arbeit bekannt geworden, daran, die Erscheinung eiweiß-chemisch zu studieren. Ich erwartete, daß vermutlich die durch die plötzlichen Blutverluste bedingte Verwässerung des Blutes (Einströmen von Gewebssäften in den Kreislauf) eine Aenderung in der Fällbarkeit der Globuline und damit eine scheinbare Vermehrung des Agglutiningehaltes bewirken könnte; unerklärlich war mir freilich von Anfang an, warum die gegen Eiweiß

1) Bd. 26, p. 199.

oder Blutkörperchen gerichteten Antikörper nicht in derselben Weise betroffen sein sollten wie die Agglutinine.

Ich habe deshalb zunächst an 2 Typhus-Immunkaninchen, die sich gerade im Institute vorfanden, die Versuche Langers wiederholt, die beschriebene Titerzunahme aber nicht erhalten. Der negative Ausfall dieses Vorversuches versetzte mich daher in die Notwendigkeit, die ganze Frage nachzuprüfen. Es wurden genau nach den Angaben der Autoren an einer Anzahl (6) für diesen Zweck immunisierter Kaninchen an aufeinanderfolgenden Tagen 8—10 Blutentziehungen von je 20 bis 30 ccm gemacht, in keinem Fall gelang es mir, eine Titersteigerung zu erzielen, meist trat vielmehr eine zwar geringfügige, aber deutliche Abschwächung des Agglutiningehaltes ein. Ich lasse die diesbezüglichen Protokolle in ihren wesentlichen Einzelheiten folgen:

Kan. 1, 1945 g. Vorbehandlung: intravenöse Injektion von Typhusbacillen am 22. und 28. XII. sowie am 3. I. Probetitration am 25. und 26. I. = 5000 ++. Hierauf täglich Blutentnahmen von 20—22 ccm. Nach der dritten Entnahme 2500 ±, bei der neunten 1000 ±. Diese Bestimmungen waren mit Aufschwemmungen lebender, 24-stündiger Agarkulturen desselben Stammes gemacht. Mit einer sehr empfindlichen, durch Formalin abgetöteten Bacillenemulsion waren die entsprechenden Titer 80 000 +, später nur noch 20 000 ±.

Kan. 2 und 3, 1810 g und 1760 g, vorbehandelt mit Typhus- resp. Paratyphusbacillen, Injektionen am 25. und 31. I. und 5. II. Titer am 15. und 16. II.: Ty-Kan. 32 000 ±, B-Kan. 1600 +; am 18. II. Ty-Kan. 16 000 ±, B-Kan. 1600 +. (Nur geringe Probeblutentnahmen.) Die beiden Tiere blieben hierauf in Ruhe bis zum 17. III., wo die erste Blutentnahme von 20 ccm gemacht wurde. Vorproben am 15. und 16. III. hatten ergeben: Ty-Kan. 1000 ±, B-Kan. 500 ±, 1000 Spur. Nach der vierten Blutentnahme war der Titer des Ty-Kan. etwas gesunken (800 ±, 1000 nur noch Spur agglutiniert), er blieb an den weiteren Tagen (im ganzen 8 Blutentziehungen von 20—25 g) um 800 ± schwankend. Ganz ähnlich verhielt sich das B-Kan., dessen Agglutinationsgrenze sich um 400 (Spur bis ±) bewegte.

Kan. 4 und 5, 1750 und 1590 g, wurden in gleicher Weise mit Typhus- und Paratyphus B-Bacillen injiziert am 12., 20. und 27. VI. Titer am 10. VII. bei beiden Tieren ca. 1000. Sie erhielten noch eine Injektion und blieben in Ruhe bis zum 18. VIII. Das Ty-Kan. wies jetzt einen Titer von 2000 ± auf, welcher sich mit geringen Schwankungen während 10 Tagen (9 Entnahmen von 20 ccm) zwischen 1000 und 2000 hielt. Beim B-Kan. war der Titer am 18. VIII. 4000 +, 8000 Spur, er sank auf 2000 Spur bis 2000 +.

Kan. 6, 2510 g, erste Injektion 13. VII. mit Typhusbacillen; weitere am 20. und 27. VII. Titer am 26. VIII. 1000 ++, 2000 ±. Beginn der Blutentnahme am 9. IX., täglich 22—30 ccm (da es sich um ein größeres Tier handelte). Trotz neunmaliger Entnahme blieb der Titer, von ganz geringfügigen Schwankungen abgesehen, und obwohl das Tier nach der vierten Entnahme 5 Junge warf (die entfernt wurden), konstant.

Es wurde somit bei 6 (mit den Vorversuchen 8) Kaninchen nie eine Titerzunahme, mehrmals eine geringfügige Abnahme beobachtet.

Die Versuche wurden mit verschiedenen alten und vor kürzerer oder längerer Zeit (3—6 Wochen)¹⁾ immunisierten Tieren gemacht, die Blutentnahmen stets auf einmal und schnell (meist innerhalb 1—3 Minuten aus einer durch Xylol stark erweiterten Ohrvene) ausgeführt, so daß das abweichende Ergebnis kaum auf irgendwelche Unterschiede der Versuchstechnik beruhen dürfte. Wieso die von Hahn und Langer beobachteten, so auffallenden Titersteigerungen zustande kamen, kann ich natürlich nicht entscheiden. Ich möchte aber in der Arbeit dieser Autoren selbst einen nicht unwichtigen Einwand gegen die erhaltenen Resultate in dem Umstand erblicken, daß sie bei den mit Hammelserum oder -blut vorbehandelten Kaninchen einen Einfluß der Blutentziehung nicht gesehen haben. Nach allem, was wir jetzt von den Agglutininen einerseits, den Eiweißpräzipitinen und den Hämolytinen andererseits wissen, handelt es sich bei allen diesen Reaktionen um einen im Wesen gleichartigen Vorgang, nämlich um eine Fällung der Antikörper-Globuline auf das Antigen. Es wäre nun schwer verständlich, wieso die gegen Bakterien-eiweiß gerichteten Globuline (= Agglutinine) durch die Blutentziehung in so eigenartiger Weise vermehrt oder in ihrer Fällbarkeit verändert würden, ohne daß die ihnen physikalisch-

1) Auf eine persönliche Anfrage hatte Herr Dr. Langer die Liebenswürdigkeit, mich aufmerksam zu machen, daß vielleicht der Zeitpunkt, in welchem die Blutentnahmen gemacht werden, meine negativen Ergebnisse bedingen könnte; er hatte seine Versuche immer erst begonnen, wenn der Titer schon das Maximum erreicht resp. überschritten hatte. Ich habe deshalb bei den späteren Versuchen stets mehrere Wochen zwischen Immunisierung und Versuch verstreichen lassen (s. o.), so daß auch hierin der Grund meiner differenten Resultate nicht gelegen sein kann.

chemisch so nahe verwandten, gegen Blutzellen oder -eiweiß gerichteten Antikörper hiervon nicht auch betroffen sein sollten. In dem negativen Ausfall der diesbezüglichen Versuche Landauers möchte ich in erster Linie einen Beweis für die Richtigkeit meiner eigenen Versuche erblicken ¹⁾).

Die von den Autoren beschriebene Lipämie nach den wiederholten starken Blutentziehungen habe ich ebenfalls häufig gesehen. Sie dürfte nicht mit besonderen Reizzuständen der blutbildenden Organe zusammenhängen, sondern ist zweifellos eine bloße Folge der eintretenden Anämie, der zufolge die Oxydationsvorgänge im Organismus herabgesetzt werden. Dies bedingt eine minder reichliche Verbrennung auch der Fette, die sich deshalb namentlich bei fettreicher Nahrung im Blute anhäufen. Die gleiche Erscheinung liegt ja auch vielen klinischen Lipämien zugrunde.

Es schien mir wichtig, diese die quantitativen Verhältnisse der Antikörperbildung betreffenden Befunde richtigzustellen, da sie für die kaum einer Klärung näher rückende Immunchemie leicht neue Schwierigkeiten hätten hervorrufen können. Die Tatsache, daß der Agglutiningehalt eines Tieres sich nahezu konstant erhält, obwohl wir ihm im Verlaufe von 1—2 Wochen eine seiner ursprünglichen Menge entsprechende Blutmenge entnehmen, ist ja schon an sich von einigem Interesse. Sie widerspricht aber nicht den an anderer Stelle ²⁾ von uns entwickelten Vorstellungen über die Entstehung der Antikörper; denn jede Entnahme führt ja nur zu einer Verdünnung des Blutes um $\frac{1}{6}$ — $\frac{1}{8}$, der Verlust wird durch Eintritt von ebenfalls antikörperhaltigen Gewebssäften und durch Ablösung von Antikörper-Eiweißteilchen, die in den Geweben adsorbiert waren — namentlich die großen Oberflächen der Bindegewebsfasern (Subcutis etc.) dürften das Hauptreservoir der Antikörper sein — ausgeglichen. Nur so ist die lange Dauer der Immunität überhaupt verständlich. Auf jeden Fall kann aber in den Verhältnissen, welche der Gegenstand dieser Untersuchungen waren, keine Stütze für die frühere

1) Bei Abfassung dieser Mitteilung war mir eine kurze Arbeit von H. Landau noch unbekannt (Zeitschr. f. Hyg., Bd. 86, p. 260), die sich mit derselben Frage befaßt und ebenfalls zu einem ganz negativen Ergebnis kam.

2) Herzfeld und Klinger, Biochem. Zeitschr., Bd. 85.

536 Klinger, Zur Frage der Titersteigerung durch Blutentziehungen.

Annahme gefunden werden, daß die Antikörper von irgendwelchen Zellen (oder Organen) auf gewisse „Reize“ hin plötzlich in bedeutender Menge und gewissermaßen aus sich heraus gebildet würden.

Zusammenfassung.

Im Gegensatz zu den Befunden von Hahn und Langer konnte durch wiederholte, starke Blutentziehungen bei Immunkaninchen der Agglutinintiter nicht erhöht werden; derselbe blieb entweder nahezu konstant oder zeigte ein leichtes Absinken. (G. C.)

51.

